

**EKSPLORASI PGPR DARI RIZOSFER TUMBUHAN FAMILI
CYPERACEAE DI UB FOREST SERTA POTENSINYA
SEBAGAI AGENS ANTAGONIS TERHADAP
Xanthomonas oryzae pv. *oryzae***

**Oleh
WAHYU EKO PRASTYO**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2018**

**EKSPLORASI PGPR DARI RIZOSFER TUMBUHAN FAMILI CYPERACEAE DI
UB FOREST SERTA POTENSINYA SEBAGAI AGENS ANTAGONIS
TERHADAP *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae***

Oleh
WAHYU EKO PRASTYO
145040200111044

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2018**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, 20 September 2018

Wahyu Eko Prastyo



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Eksplorasi PGPR dari Rizosfer Tumbuhan
Famili Cyperaceae di Ub-Forest serta Potensinya
sebagai Agens Antagonis terhadap *Xanthomonas*
oryzae pv. *oryzae*

Nama Mahasiswa : Wahyu Eko Prastyo

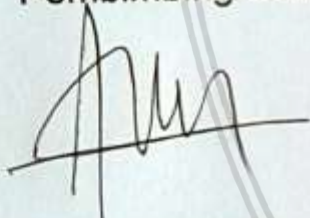
NIM : 145040200111044

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Menyetujui : Dosen Pembimbing

Pembimbing Utama,



Lugman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.
NIP. 19720919 199802 1 001

Disetujui



Pembimbing Pendamping,



Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc.
NIK. 201409 880504 2 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan
Hama dan Penyakit Tumbuhan



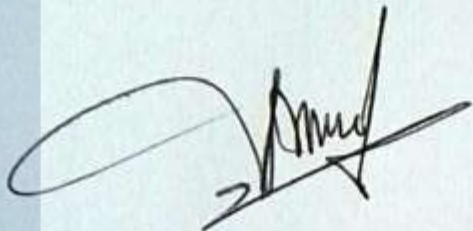
Drs Ir. Ludi Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

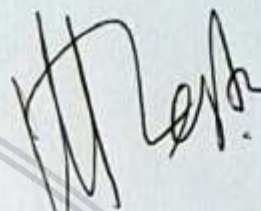
MAJELIS PENGUJI

Penguji I



Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS.
NIP. 19590705 198601 1 003

Penguji II



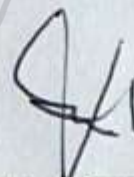
Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc.
NIK. 201409 880504 2 001

Penguji III



Lugman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.
NIP. 19720919 199802 1 001

Penguji IV



Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus : 2 8 SEP 2018



*Skripsi ini ku persembahkan untuk
kedua orang tua tercinta, ketiga adikku tersayang,
keluarga besar, sahabat serta
seluruh orang yang membutuhkan informasi dalam skripsi ini*

RINGKASAN

Wahyu Eko Prastyo. 145040200111044. Eksplorasi PGPR dari Rizosfer Tumbuhan Famili Cyperaceae di UB Forest serta Potensinya sebagai Agens Antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Di bawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. sebagai Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc. sebagai Pembimbing Pendamping.

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman penghasil bahan makanan pokok bagi penduduk di Indonesia. Penyebab menurunnya produktivitas padi yaitu serangan penyakit penting hawar daun bakteri (HDB) yang disebabkan oleh bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). Pengendalian HDB dengan memanfaatkan varietas tahan dan bakterisida berbahan kimia masih kurang efektif. Pemanfaatan agens hayati merupakan solusi alternatif. Mikroorganisme banyak ditemukan pada lingkungan yang masih alami seperti hutan UB Forest. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengkaji keberadaan bakteri PGPR dari tumbuhan Famili Cyperaceae yaitu *Cyperus iria* dan *Cyperus difformis* di UB Forest serta potensinya sebagai agens antagonis terhadap Xoo.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan dan *green house* Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang mulai Februari - Agustus 2018. Rangkaian penelitian meliputi pengambilan sampel dan isolasi bakteri rizosfer, seleksi bakteri rizosfer sebagai PGPR (penambat nitrogen dan pelarut fosfat) dan agens antagonis terhadap Xoo, uji penghambatan terhadap Xoo secara *in vitro*, identifikasi bakteri hasil seleksi, dan uji penekanan terhadap Xoo pada tanaman padi IR-64 secara *in vivo*. Pengujian menggunakan 7 perlakuan dan 4 ulangan.

Pada hasil eksplorasi diperoleh 41 isolat bakteri rizosfer. Diantaranya diperoleh 5 isolat bakteri hasil seleksi sebagai PGPR dan agens antagonis terhadap Xoo. Pada pengujian *in vitro*, semua isolat bakteri menghasilkan zona hambat. Zona hambat terbesar dihasilkan oleh isolat bakteri kode A6. Sedangkan untuk hasil uji *in vivo*, semua bakteri dapat menekan penyakit HDB dengan persentase yang berbeda-beda. Isolat bakteri kode A6, A7, A9, dan B8 dapat menekan HDB dengan persentase intensitas penyakit terkecil dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Aplikasi bakteri hasil seleksi berpengaruh terhadap tinggi tanaman, jumlah daun, dan panjang akar tanaman padi. Perlakuan dengan isolat bakteri PGPR kode A9 dan B8 dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman padi dengan baik. Hasil karakterisasi dan identifikasi dari 5 isolat bakteri PGPR diketahui bahwa isolat bakteri kode A5 dan A7 termasuk pada genus *Pantoea* sp., isolat bakteri kode A6 termasuk genus *Xanthomonas* sp., dan isolat bakteri kode A9 dan B8 termasuk genus *Pseudomonas* sp.

SUMMARY

Wahyu Eko Prastyo. 145040200111044. Exploration of PGPR Associated with Rhizospheric Plant of Famili Cyperaceae in UB Forest and Its Potency as Agent Antagonist against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Supervised by Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. as main Supervisor and Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc. as second Supervisor.

Rice (*Oryza sativa* L.) is a staple food producer for the population in Indonesia. The cause of the decrease in rice productivity is the attack of important diseases of bacterial leaf blight caused by pathogenic bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). Bacterial leaf blight control by utilizing resistant and bactericidal varieties made from chemicals is still less effective. Utilization of biological agents is an alternative solution. Microorganisms are found in natural environments such as the UB Forest. The purpose of this research is to examine the presence of PGPR bacteria from plants Cyperaceae famili, *Cyperus iria* and *Cyperus difformis* at UB Forest and its potential as an antagonist agent against Xoo.

The research was conducted at the Plant Disease Laboratory and green house, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya, Malang, from February to August 2018. The research consisted of several stages: sampling and isolation of rhizospheric bacteria, selection of rhizospheric bacteria as PGPR (nitrogen fixing and phosphate solvents) and antagonist agent against Xoo, in vitro antagonistic test of bacteria against Xoo, identification of bacterial selection results, and suppression test bacterial leaf blight in rice variety IR-64 in an in vivo condition. Both of the test use 7 treatments and 4 replications.

The results of the exploration obtained 41 rhizospheric bacteria isolates. Among of them were obtained 5 bacterial isolates selected as PGPR and antagonistic agents against Xoo. In vitro testing, all bacterial isolates produced inhibitory zones. The biggest inhibitory zone is produced by bacterial code A6 isolate. As for the results of the in vivo test, all bacteria can suppress bacterial leaf blight with different percentages. Bacterial code A6, A7, A9, and B8 isolate can suppress bacterial leaf blight with the smallest percentage of disease intensity compared to control treatments. Application of bacterial selection results affect the length of the plant, the number of leaves, and the length of the roots of rice plants. Treatment with PGPR bacterial code A9 and B8 isolates can increase the growth of rice plants well. The results of the characterization and identification of 5 PGPR bacterial isolates found that the bacterial isolates code A5 and A7 included in the genus *Pantoea* sp., bacterial isolate code A6 included the genus *Xanthomonas* sp., and bacterial isolates code A9 and B8 including the genus *Pseudomonas* sp.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala limpahan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Eksplorasi PGPR dari Rizosfer Tumbuhan Famili Cyperaceae di UB Forest serta Potensinya sebagai Agens Antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*”** dengan baik. Skripsi ini dapat terwujud berkat bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Bapak Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. selaku pembimbing utama dan Ibu Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc. selaku pembimbing pendamping atas bimbingan serta nasehat dalam penyelesaian skripsi.
2. Ibu Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
3. Seluruh dosen Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan atas ilmu dan bimbingan yang diberikan.
4. Seluruh karyawan dan staff Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan atas fasilitas dan bantuan yang diberikan.
5. Seluruh keluarga Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan 2014 terutama keluarga Laboratorium Penyakit Tumbuhan I yang telah banyak mendukung penulis selama penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.
6. Kedua orang tua dan keluarga atas doa dan dukungan baik moril maupun materiil.

Penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak serta bisa memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan guna memperbaiki karya tulis selanjutnya.

Malang, 20 September 2018

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Desa Sumpersari, Kecamatan Ngronggot, Kabupaten Nganjuk, Jawa Timur pada tanggal 11 Juni 1996 sebagai anak pertama dari 4 bersaudara dari pasangan M. Sugeng dan Nuryati. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Sumberjo lulus pada tahun 2008, pendidikan menengah pertama di SMPN 1 Grogol lulus pada tahun 2011, pendidikan menengah atas di SMAN 1 Grogol lulus pada tahun 2014. Pada tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 di Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Pada semester 6, penulis memasuki jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam kegiatan akademik maupun non-akademik baik intra maupun ekstrakampus. Dalam kegiatan akademik, penulis pernah aktif menjadi asisten praktikum mata kuliah Dasar Budidaya Tanaman, Teknologi Produksi Tanaman, Manajemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, dan Pertanian Berlanjut. Dalam kegiatan non-akademik, penulis pernah menjabat sebagai Sekretaris Umum dan Kepala Departemen Pengembangan Sumberdaya Muslim di organisasi FORSIKA (Forum Studi Islam Insan Kamil), Pengawas Mutu dan Jaminan Organisasi di BEM (Badan Eksekutif Mahasiswa), dan Staff Ahli Komisi A Perundang-undangan di DPM (Dewan Perwakilan Mahasiswa), sedangkan ekstrakampus penulis pernah aktif sebagai Bidang Minat Bakat di KAMMI (Kesatuan Aksi Mahasiswa Muslim Indonesia), anggota PSDM di komunitas lingkungan Sobat Bumi Malang, dan volunteer Rumah Zakat.

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
 I. PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Padi	4
2.2 Penyakit Hawar Daun pada Tanaman Padi	5
2.3 Bakteri Rizosfer	6
2.4 Tumbuhan Famili Cyperaceae	7
2.5 Mekanisme Antagonis PGPR pada Patogen Tanaman	8
III. METODE PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan Tempat	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Metode Penelitian	10
3.4 Pelaksanaan Penelitian	11
3.5 Variabel Pengamatan	19
3.6 Analisis Data	20
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Seleksi Bakteri Rizosfer sebagai PGPR dan Agens Antagonis terhadap <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	 21
4.2 Uji Penghambatan oleh Bakteri Hasil Seleksi terhadap <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> pada Cawan Petri	 24
4.3 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri PGPR	26
4.4 Pengujian Penekanan oleh Bakteri Antagonis terhadap Perkembangan Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi	 33
4.5 Pembahasan Umum	38
V. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	51

DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1	Perlakuan uji antagonis bakteri rizosfer terhadap Xoo	13
2	Hasil seleksi bakteri hasil eksplorasi sebagai penambat nitrogen	21
3	Hasil seleksi bakteri hasil eksplorasi sebagai pelarut fosfat	22
4	Hasil seleksi bakteri hasil eksplorasi sebagai agens antagonis	23
5	Rerata zona hambat bakteri antagonis terhadap bakteri patogen Xoo ..	24
6	Morfologi koloni tunggal dan morfologi sel bakteri PGPR.....	26
7	Hasil uji fisiologi dan biokimia isolat bakteri PGPR	27
8	Hasil analisis statistik tinggi tanaman padi	33
9	Hasil analisis statistik jumlah daun tanaman padi	35
10	Hasil analisis statistik intensitas penyakit pada tanaman padi	36
11	Hasil analisis statistik panjang akar tanaman padi	39

Lampiran

1	Hasil Analisis Ragam Uji Antagonis secara <i>In Vitro</i>	51
2	Hasil Analisis Ragam Tinggi Tanaman pada 5 HSI	51
3	Hasil Analisis Ragam Tinggi Tanaman pada 10 HSI	51
4	Hasil Analisis Ragam Tinggi Tanaman pada 15 HSI	51
5	Hasil Analisis Ragam Tinggi Tanaman pada 20 HSI	51
6	Hasil Analisis Ragam Jumlah Daun pada 5 HSI.....	51
7	Hasil Analisis Ragam Jumlah Daun pada 10 HSI.....	53
8	Hasil Analisis Ragam Jumlah Daun pada 15 HSI.....	53
9	Hasil Analisis Ragam Jumlah Daun pada 20 HSI.....	53
10	Hasil Analisis Ragam Intensitas Penyakit pada 10 HSI.....	53
11	Hasil Analisis Ragam Intensitas Penyakit pada 15 HSI.....	53
12	Hasil Analisis Ragam Intensitas Penyakit pada 15 HSI.....	53
13	Hasil Analisis Ragam Panjang Akar pada 20 HSI.....	54

DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1	Gejala Hawar daun bakteri pada Padi	6
2	Morfologi <i>Cyperus iria</i> dan <i>Cyperus difformis</i>	8
3	Diagram pengujian bakteri hingga tingkat Genus	18
4	Hasil pengujian antagonis pada cawan Petri hari ke-1.....	25
5	Morfologi koloni tunggal bakteri PGPR	27
6	Hasil uji hipersensitif 3 HSI pada daun tembakau.....	28
7	Sel bakteri hasil uji pewarnaan Gram bakteri A5	29
8	Hasil uji KOH 3% terhadap isolat bakteri A9	29
9	Hasil uji katalase terhadap isolat bakteri A9	30
10	Hasil uji Oksidatif - Fermentatif terhadap bakteri A5	31
11	Gejala HDB yang muncul pada beberapa sampel daun padi	37

Lampiran

1	Gejala Penyakit HDB pada Masing-masing Perlakuan	53
2	Tinggi Tanaman Semua Perlakuan pada 7 MST	54
3	Panjang Akar Semua Perlakuan pada 7 MST	54
4	Hasil Seleksi Bakteri Penambat Nitrogen (N)	55
5	Hasil Seleksi Bakteri Pelarut Fosfat (P)	55
6	Identifikasi Bakteri pada media YDC dan King's B.....	56
7	Hasil Uji Hipersensitif	56
8	Gambar Hasil Pewarnaan Gram	57
9	Hasil Uji KOH 3%	57
10	Hasil Uji Katalase	57
11	Hasil Uji Oksidatif – Fermentatif	58

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman penghasil bahan makanan pokok bagi penduduk di Indonesia. Produktivitas padi mengalami fluktuasi selama 5 tahun terakhir (2013-2017). Produktivitas padi mengalami penurunan dari 71.280.000 ton pada tahun 2013 menjadi 70.846.000 ton pada tahun 2014 (Badan Pusat Statistik, 2017). Pertumbuhan penduduk yang terus meningkat mengakibatkan kebutuhan meningkat. Nilai produksi beras lebih kecil jika dibandingkan dengan nilai permintaan beras sehingga impor beras semakin meningkat. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2017) beras impor yang masuk sepanjang periode Januari - Februari 2017 yakni sebesar 14.473 ton. Impor tersebut naik dibandingkan dengan periode yang sama tahun sebelumnya dimana impornya tercatat sebesar 2.000 ton.

Salah satu faktor penghambat pertumbuhan dan produksi padi yaitu serangan penyakit penting pada tanaman padi, terutama hawar daun bakteri (HDB). HDB disebabkan oleh bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). Ambang kerusakan akibat HDB mencapai 20% pada dua minggu sebelum panen (Suparyono dan Sudir, 1992). Kehilangan hasil akibat serangan HDB yaitu mencapai 15 - 80% (Lalitha *et al.*, 2010).

Upaya pengendalian saat ini yang dianggap efektif adalah aplikasi bakterisida kimia dan varietas tahan, namun masih terkendala oleh ketahanan varietas padi yang mudah terpatahkan oleh kemampuan patogen dalam membentuk patotipe baru yang lebih virulen (Ponciano *et al.*, 2003; Suparyono *et al.*, 2004). Sementara itu, penggunaan bakterisida kimia sangat tidak dianjurkan, karena dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan dan kesehatan manusia akibat residu yang ditinggalkan (Sitaramaraju *et al.*, 2014). Menurut penelitian oleh Lestari *et al.*, (2007) dan Hastuti *et al.*, (2014) mengungkapkan bahwa *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* termasuk ke dalam kategori bakteri patogen tular tanah. Mikroba rizosfer memiliki peran dalam optimalisasi siklus hara, pertumbuhan tanaman, dan sebagai pengendali hayati terhadap patogen tular tanah (Prayudyaningsih *et al.*, 2015). Oleh karena itu, pemanfaatan bakteri

rizosfer sebagai agens hayati merupakan salah satu alternatif untuk mengendalikan penyakit HDB.

Hutan memiliki keanekaragaman hayati (biodiversitas) yang tinggi. Kekayaan hayati terbesar banyak ditemukan di hutan - hutan daerah tropis, termasuk Indonesia (Whitmore, 1990). Pemanfaatan potensi biodiversitas hutan telah dilakukan tetapi masih dalam jumlah terbatas. Salah satu biodiversitas hutan yang belum dimanfaatkan dengan baik adalah bakteri - bakteri penghuni akar tumbuhan (bakteri rizosfer) yang dapat dimanfaatkan sebagai agens hayati potensial bersifat antagonis terhadap penyakit pada tanaman. Bakteri rizosfer atau PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) dapat menghambat pertumbuhan dan mengurangi populasi patogen tanaman melalui produksi senyawa antimikroba dan kompetisi (Van Loon dan Bakker, 2003). Mekanisme PGPR dalam meningkatkan kesehatan tanaman yaitu memacu pertumbuhan tanaman (*biostimulant*), melarutkan dan/atau menambat unsur hara dari dalam tanah (*biofertilizer*), dan melindungi tanaman dari patogen yang menyerang (*bioprotectant*). Selain memiliki banyak manfaat untuk tanaman, PGPR juga belum pernah ditemukan menyebabkan resistensi patogen tanaman di lapangan (Freeman *et al.*, 2002).

Tumbuhan famili Cyperaceae merupakan jenis tumbuhan gulma yang memiliki potensi tumbuh yang tinggi pada lahan padi. Menurut hasil penelitian Fitri *et al.*, (2014) bahwa pertumbuhan gulma dari famili Cyperaceae mendominasi pada lahan tanaman padi, mencapai 62,9%.

Penelitian mengenai pengendalian HDB dengan memanfaatkan bakteri rizosfer telah banyak dilakukan, namun masih sedikit yang dilaporkan. Hasil penelitian dari Pou *et al.* (2015) dan Putra dan Giyanto (2014) menyatakan bahwa diperoleh isolat bakteri Actinomycetes dari rizosfer tumbuhan famili Cyperaceae (*Cyperus rotundus*) yang dapat menekan perkembangan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dengan menghasilkan senyawa antibiotik serta dapat memacu pertumbuhan tanaman padi. Bakteri rizosfer antagonis mampu menekan perkembangan HDB (Vidhyasekaran *et al.*, 2001; Nellawati *et al.*, 2016) dan mampu memacu pertumbuhan tanaman padi (PGPR) (Kloepper *et al.*, 2004; Putra dan Giyanto, 2014). Selain itu, hasil penelitian Chithrashree *et al.*, (2011)

menyatakan bahwa bakteri rizosfer *Bacillus pumilus* SE34 mampu menekan HDB sebesar 71%, dan *Bacillus subtilis* GBO3 sebesar 58%. Sumarno *et al.* (2014) menyebutkan bahwa bakteri rizosfer *Bacillus pumilus* dapat menghambat bakteri patogen Xoo.

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan, maka dilakukan penelitian mengenai eksplorasi bakteri rizosfer sebagai PGPR dan agens antagonis dari tumbuhan famili Cyperaceae untuk mengatasi permasalahan serangan HDB pada tanaman padi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji apakah terdapat isolat bakteri PGPR di rizosfer tumbuhan famili Cyperaceae sebagai alternatif pengendalian HDB pada tanaman padi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang diajukan dalam penelitian ini yaitu apakah terdapat isolat PGPR pada rizosfer tumbuhan famili Cyperaceae (*Cyperus iria* dan *Cyperus difformis*) di UB Forest yang bersifat antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* penyebab hawar daun bakteri pada tanaman padi?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu mengkaji keberadaan bakteri PGPR dari tumbuhan Famili Cyperaceae yaitu *Cyperus iria* dan *Cyperus difformis* di UB Forest serta potensinya yang bersifat antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* penyebab hawar daun bakteri pada tanaman padi.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dari penelitian ini adalah pada rizosfer tumbuhan famili Cyperaceae (*Cyperus iria* dan *Cyperus difformis*) di UB Forest terdapat isolat PGPR yang bersifat antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* penyebab hawar daun bakteri pada tanaman padi.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu sebagai upaya dan landasan pengembangan PGPR yang dapat dimanfaatkan sebagai agens hayati untuk mengendalikan hawar daun bakteri pada tanaman padi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Padi

- Klasifikasi

Tanaman padi diklasifikasikan sebagai berikut kingdom Plantae, divisi Magnoliophyta, subdivisi Angiospermae, kelas Monocotyledoneae, ordo Poales, famili Poaceae (suku rumput-rumputan), genus *Oryza*, spesies *Oryza sativa* L (Plantamor, 2012).

- Syarat Pertumbuhan

Tanaman padi tumbuh dan hidup di dataran rendah pada 0 - 650 mdpl dengan suhu rata-rata antara 22° - 27°C, sedangkan di dataran tinggi pada 650 – 1.500 mdpl dengan suhu rata-rata 19 – 23 °C. Tanaman padi memerlukan penyinaran matahari penuh tanpa naungan (Syekhfani, 2013). Budidaya tanaman padi, pengaruh suhu harus diperhatikan karena suhu yang rendah dalam budidaya padi akan memperlambat perkecambahan benih sehingga dapat memperlambat proses pemindahan bibit ke lapangan (Rosmawati, 2008). Curah hujan untuk tanaman padi yaitu 200 mm/bulan. Curah hujan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan vegetatif dan generatif. Pengaruh suhu terhadap tanaman padi yaitu terjadinya kehampaan pada biji padi (Hasanah, 2007).

- Fase Pertumbuhan

Fase pertumbuhan tanaman padi menurut Makarim dan Suhartatik (2009) antara lain ada 3 fase, yaitu:

a. Vegetatif

Fase vegetatif padi merupakan fase pertumbuhan organ-organ vegetatif, seperti batang, daun, dan anakan. Pada fase ini terjadi beberapa tahapan pertumbuhan yaitu berkecambahnya benih, pertunasan, hingga keluar anakan yang pertama.

b. Reproduksi

Pada fase reproduktif beberapa ruas teratas dari padi mulai memanjang, berkurangnya jumlah anakan yang mati karena kurang produktif, munculnya daun bendera, dan terjadi pembungaan.

c. Pematangan

Fase pematangan merupakan fase terakhir pada pertumbuhan tanaman padi. Pada fase ini terjadi pengisian gabah dari matang susu, gabah setengah matang hingga gabah matang penuh mendekati panen.

2.2 Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi

Hawar daun bakteri (HDB) merupakan salah satu penyakit tanaman padi yang sangat penting di negara-negara penghasil padi di dunia, termasuk di Indonesia (Suparyono *et al.*, 2004). HDB disebabkan oleh bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo), yang dapat menginfeksi tanaman padi pada semua fase pertumbuhan, mulai dari persemaian sampai menjelang panen (Suparyono dan Sudir, 1992). Penyebab penyakit (patogen) menginfeksi tanaman padi pada bagian daun melalui luka daun atau melalui lubang alami berupa stomata dan merusak klorofil daun, sehingga menurunkan kemampuan tanaman untuk berfotosintesis. Apabila hal ini terjadi pada fase generatif maka proses pengisian gabah (bulir) menjadi kurang sempurna (Hifni dan Kardin, 1998).

Bakteri Xoo memiliki ciri-ciri yaitu bersifat Gram negatif, berbentuk batang pendek ukuran 0,45-0,75 x 0,65-2,1 μ , satu flagella di salah satu ujungnya ukuran 0,03-8,75 μ dan warna koloni bakteri kekuningan (Degrasi *et al.*, 2010). Patogen tersebut mempunyai tingkat virulensi bervariasi berdasarkan kemampuannya dalam menginfeksi varietas padi yang memiliki gen dengan resistensi berbeda dan interaksi antara gen virulen patogen dengan gen tahan tanaman (Jha *et al.*, 2007). Bakteri Xoo penyebab hawar daun bakteri pada padi diketahui memiliki keragaman patotipe. Keragaman patotipe ini menyebabkan mudah patahnya suatu ketahanan varietas tanaman padi (Sudir *et al.*, 2012). Suryadi *et al.* (2006) melaporkan bahwa Xoo memiliki tingkat variabilitas virulensi dan pembentukan galur baru di lapangan yang menyebabkan terjadinya pergeseran patotipe.

Gejala penyakit HDB (gambar 1) yaitu pada tepi atau bagian daun yang luka tampak suatu garis bercak kebasahan kemudian meluas ke ujung dan pangkal daun lalu melebar, berwarna hijau keabu-abuan, daun keriput, dan akhirnya layu. Hawar daun bakteri memiliki gejala khas yaitu terjadi penggulungan helaian daun dan warna daun menjadi hijau pucat atau keabu-abuan. Pada tanaman dewasa umur sekitar 4 - 5 minggu setelah tanam, hawar daun bakteri menimbulkan gejala

hawar (*blight*). Jika tanaman rentan, gejala tersebut akan terus berkembang hingga keseluruhan daun menjadi kering (Suparyono dan Sudir, 1992).



Gambar 1. Gejala Hawar Daun Bakteri pada Padi (BPTP, 2015)

Perkembangan HDB dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya varietas padi yang ditanam dan kondisi lingkungan yang mendukung seperti kelembaban dan pemupukan N yang tinggi (Sudir *et al.*, 2012). Pertanaman dengan intensitas pengairan yang tinggi dapat membentuk kondisi lingkungan yang mendukung perkembangan HDB. Selain itu, jarak tanam yang rapat menciptakan kondisi lingkungan dengan kelembaban yang tinggi dan mempermudah penularan dari satu tanaman ke tanaman padi yang lain (Sudir, 2011).

2.3 Bakteri Rizosfer

Rizosfer merupakan suatu zona lingkungan mikro yang berada di sekitar perakaran tanaman dan berperan sebagai pertahanan luar bagi tanaman terhadap serangan patogen akar. Secara teori, luasnya daerah rizosfer sangat dipengaruhi oleh seberapa luas daerah yang masih tercakup oleh pengaruh aktivitas perakaran tanaman beserta dengan mikroorganisme yang berasosiasi dengan tanaman tersebut. Daerah rizosfer dicirikan dengan aktivitas biologinya yang paling tinggi pada tanah. Pada daerah rizosfer terdapat sekitar 10^6 - 10^9 sel populasi bakteri, dan fungi sekitar 10^5 - 10^6 per gram tanah rizosfer (Silvia, 2005).

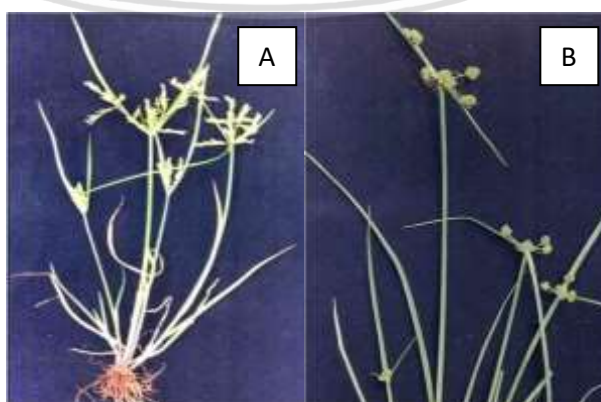
Bakteri rizosfer yang bermanfaat antara lain bakteri pelarut fosfat (BPF) dan bakteri penambat nitrogen non-simbiotik. Bakteri pelarut fosfat merupakan bakteri yang berperan dalam penyuburan tanah karena mampu melarutkan fosfat dengan mengekskresikan sejumlah asam organik berbobot molekul rendah seperti oksalat, suksinat, fumarat, dan malat. Asam-asam organik ini akan bereaksi dengan bahan pengikat fosfat, seperti Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , atau Mg^{2+} membentuk

khelat organik yang stabil sehingga mampu membebaskan ion fosfat terikat dan dapat dimanfaatkan oleh tanaman (Simanungkalit dan Suriadikarta, 2006). Widawati dan Suliasih (2006) menyatakan bahwa populasi BPF di daerah rizosfer mencapai 10 - 100 kali lebih banyak dibandingkan daerah non-rizosfer karena akar mengekskresikan bahan organik yang dapat mencukupi dan merangsang pertumbuhan bakteri. Bakteri penambat nitrogen non-simbiotik merupakan bakteri yang dapat mengubah molekul nitrogen menjadi amonium tanpa bergantung pada organisme lain. Jumlah nitrogen hasil penambatan nitrogen secara biologis merupakan yang terbesar dari seluruh proses penambatan N_2 atmosfer menjadi ion amonium (Danapriatna, 2010). Beberapa dari mikrobakteri rizosfer yang telah digunakan sebagai inokulan antara lain *Agrobacterium tumefaciens*, *Alcaligenes* spp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (Silvia, 2005).

Secara alami, di dalam tanah terdapat potensi mikroorganisme yang dapat menekan perkembangan patogen. Sebagian besar mikroorganisme antagonis hidup sebagai saprofit. Kemampuan mikroorganisme dalam beradaptasi terhadap berbagai keadaan lingkungan merupakan suatu potensi besar untuk digunakan sebagai agens pengendalian hayati (Baker dan Cook, 1974).

2.4 Tumbuhan Famili Cyperaceae

Tumbuhan famili Cyperaceae merupakan keluarga tumbuhan gulma yang termasuk ke dalam kelompok teki-teki (*sedges*). Ciri khas gulma teki-teki yaitu memiliki batang berbentuk segitiga dan daun tampak mengkilap (gambar 2).



Gambar 2. Morfologi Tumbuhan: A. *Cyperus iria*; B. *Cyperus difformis* (RKMP, 2011)

Selain itu, sebagian besar sistim perakaran teki-tekian terdiri dari akar rimpang (*rhizome*) dan umbi (*tuber*) (Martin, 2006). *Cyperus iria* dan *Cyperus difformis* merupakan contoh dari tumbuhan gulma famili Cyperaceae.

2.5 Mekanisme Antagonis PGPR pada Patogen Tanaman

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) merupakan bakteri yang berada di sekitar perakaran tanaman dan hidup berkoloni menyelimuti akar yang berfungsi untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. PGPR mampu memberikan beberapa keuntungan pada tanaman baik dalam proses fisiologi dan pertumbuhan tanaman (Gandanegara, 2007). Menurut Wei *et al.*, (1996), mekanisme PGPR dalam meningkatkan pertumbuhan di antaranya meningkatkan penyerapan air dan unsur hara tanaman, fiksasi nitrogen, menghasilkan hormon, melarutkan fosfat, dan perlindungan terhadap patogen. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* merupakan hubungan simbiotik antara bakteri dan tanaman di daerah rizosfer bakteri pada akar (rizosfer) yang memberikan efek menguntungkan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Choudhary dan Johri, 2009). Tanaman mempunyai mekanisme pertahanan diri yang diaktifkan ketika mendapatkan tekanan biotik (patogen dan parasit) pada berbagai tingkatan. Mekanisme pertahanan mulai dari virus mikroskopis hingga serangga fitofag (Choudhary *et al.*, 2007).

Grobelak *et al.* (2005) menyatakan bahwa terdapat beberapa jenis bakteri yang telah diidentifikasi sebagai PGPR. Bakteri PGPR meliputi bakteri yang hidup bebas di dalam tanah daerah perakaran tanaman (PGPR ekstraseluler) dan bakteri endofit yang mengkolonisasi sel akar (PGPR intraseluler). Genus PGPR yang paling besar adalah *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, dan *Erwinia*. Selain itu, genus *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Rhizobium*, dan *Serratia* juga dilaporkan mampu berperan sebagai PGPR.

Mikroba yang bersifat menguntungkan bagi tanaman dapat berfungsi sebagai penyubur (biofertilizer), pengendali hayati patogen tanaman (bioprotektan), dan meningkatkan ketahanan tanaman (McMilan, 2007). Secara umum agens hayati memiliki mekanisme penghambatan terhadap patogen dengan cara menghasilkan senyawa antibiotik, kompetisi terhadap nutrisi, maupun parasitisme langsung terhadap patogen (Soesanto, 2004). Penggunaan bakteri

antagonis untuk meningkatkan hasil panen dan melindungi tanaman dari organisme pengganggu tanaman (OPT) merupakan pendekatan yang menjanjikan dalam sistem pertanian modern (Kuswinanti, 2014). Mikroba antagonis dapat berfungsi sebagai agens pengendali patogen melalui mekanisme kompetisi, antibiosis, hiperparasit, dan ketahanan terinduksi (Van Loon, 2000).

a. Antibiosis

Mekanisme antagonis merupakan penghambatan patogen oleh senyawa metabolik yang dihasilkan oleh agensia hayati, seperti enzim, senyawa *volatile*, zat pelisis, dan senyawa antibiotik lainnya. Antibiotik dapat mengakibatkan terjadinya endolisis atau autolisis yaitu pecahnya sitoplasma suatu sel yang dapat mematikan suatu mikroorganisme.

b. Kompetisi

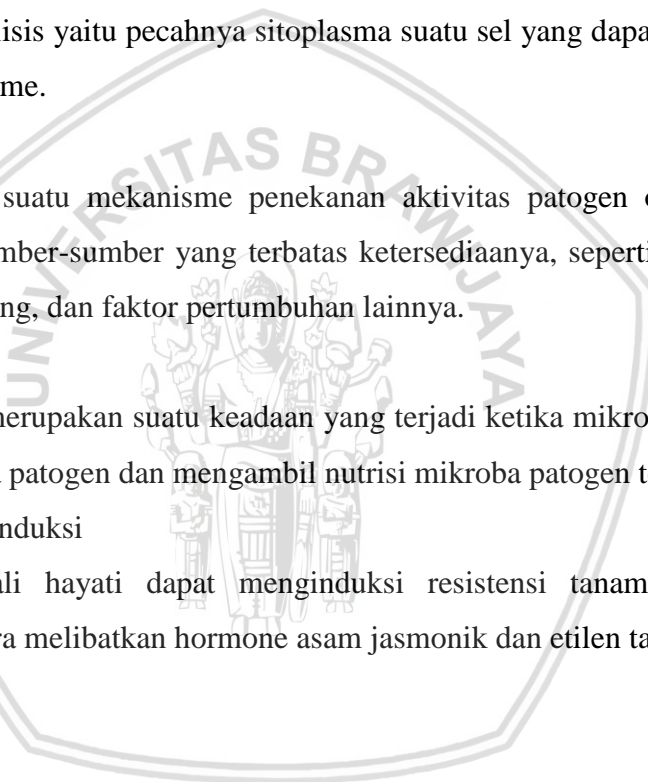
Kompetisi adalah suatu mekanisme penekanan aktivitas patogen oleh agensia hayati terhadap sumber-sumber yang terbatas ketersediaanya, seperti zat organik atau anorganik, ruang, dan faktor pertumbuhan lainnya.

c. Hiperparasit

Hiperparasitisme merupakan suatu keadaan yang terjadi ketika mikroba antagonis memarasit mikroba patogen dan mengambil nutrisi mikroba patogen tersebut.

d. Ketahanan terinduksi

Agensia pengendali hayati dapat menginduksi resistensi tanaman terhadap patogen dengan cara melibatkan hormone asam jasmonik dan etilen tanaman.



III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan dan *green house* Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang yang dimulai pada bulan Februari sampai dengan bulan Agustus 2018.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain cetok, timbangan analitik, gelas ukur, pengaduk, pisau, baskom, autoklaf tipe HL-36 Ae Hiyarama, kompor listrik, mikroskop kamera OLYMPUS SZX7 series, sprayer, cawan petri, Bunsen, jarum Ose, *tray* atau nampan, gelas ukur, panci, pinset, tabung reaksi dan penyangga, *object glass*, *cover glass*, pipet tetes, mikroskop, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) tipe H.S. 079S, *spektrofotometer*, jarum suntik, gunting, *cutter*, stick L, botol media, mikropipet Vitlab dig 100-1000 μ l, mirkotube, cuvet, pH meter, dan kamera.

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian adalah sampel tanah rizosfer tumbuhan *Cyperus iria* dan *Cyperus difformis* dari UB *Forest*, benih padi varietas IR-64, tanaman tembakau, isolat bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* yang berasal dari Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, media *Sodium Agar* (NA), media Nutrient Broth (NB), media Pikovskaya, media Burk, media King's B, media Yeast Dextrose Carbonat (YDC), media Oksidatif-Fermentatif, aluminium foil, plastik *wrapping*, kapas, bakterisida berbahan aktif streptomycin, akuades steril, tisu steril, alkohol 70% dan 96%, natrium hipoklorit, *malachite green*, plastik, *doubletip*, kertas saring, KOH 3%, iodine, kloroform, gliserol, safranin, *polybag*, larutan glukosa, parafin, H₂O₂ 3%, formalin 4%, dan spirtus.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan berdasarkan beberapa tahap yaitu : (1) pengambilan sampel dan isolasi bakteri rizosfer (2) seleksi bakteri rizosfer sebagai PGPR dan agens antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (3) uji penghambatan terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* secara *in vitro*, (4) karakterisasi dan

identifikasi bakteri hasil seleksi, (5) uji penekanan terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pada tanaman padi secara *in vivo*.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel Tanah dan Isolasi Bakteri Rizosfer

Bakteri rizosfer diperoleh dari sampel tanah yang diambil dari area yang ditumbuhi oleh dua jenis spesies tumbuhan famili Cyperaceae yaitu *Cyperus iria* dan *Cyperus difformis* di UB Forest. Pengambilan sampel tanah dilakukan secara acak pada 5 area yang berbeda pada kedalaman 0 - 20 cm, kemudian dikompositkan (Nurrochman, 2015). Sebelum dilakukan isolasi, sampel tanah dimasukkan ke dalam *cool box*.

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat atau *dilution plate* pada dua sampel tanah rizosfer. Sampel tanah yang telah dihomogenkan, diambil dan ditimbang sebanyak 1 gr kemudian dilarutkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml akuades steril. Suspensi diambil sebanyak 1 ml untuk dilakukan pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-9} . Sebanyak 100 μ l suspensi diambil dari pengenceran 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} , dan 10^{-9} kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri berisi media *Nutrient Agar* (NA), serta diratakan dengan menggunakan *stick* L dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang (Madigan dan Martinko, 2006).

Pengamatan jenis bakteri yang tumbuh dilakukan berdasarkan warna dan bentuk koloni. Koloni bakteri yang memiliki jenis warna dan bentuk yang berbeda dilakukan purifikasi. Purifikasi dilakukan pada media NA di dalam cawan petri dengan teknik penggoresan kuadran empat menggunakan jarum Ose untuk mendapatkan koloni tunggal. Selanjutnya diinkubasi selama 2x24 jam dan diamati warna, bentuk, elevasi, ukuran, tepi, dan permukaan (Waluyo, 2008).

3.4.2 Seleksi Bakteri Rizosfer

Sifat bakteri sebagai PGPR dapat ditentukan melalui kemampuannya sebagai *bioprotectant* (kemampuan memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan patogen tanaman) dan *biofertilizer* (kemampuan meningkatkan ketersediaan unsur hara atau nutrisi bagi tanaman). Kemampuan sebagai *bioprotectant* dapat dilihat dari aktivitas antagonis PGPR terhadap patogen tanaman, sedangkan kemampuan sebagai *biofertilizer* dapat diketahui melalui

aktivitas PGPR dalam menambat nitrogen dan melarutkan fosfat. Berikut beberapa seleksi bakteri rizosfer yang akan dilakukan:

a. Seleksi penambat nitrogen

Uji penambatan nitrogen dilakukan secara kualitatif yaitu dengan menumbuhkan seluruh isolat bakteri hasil eksplorasi pada media Burk. Media Burk merupakan media yang mengandung garam anorganik yang bersumber dari karbohidrat namun tidak mengandung Nitrogen di dalamnya. Komposisi media Burk antara lain garam Burk (1,3 gr), Fe-Mo (1 ml), Sukrosa (20 gr), Agar (15 gr), dan Akuades (1 L). Komposisi garam Burk terdiri dari MgSO₄ (20 gr), K₂HPO₄ (80 gr), KH₂PO₄ (20 gr), CaSO₄ (13 gr). Komposisi Fe-Mo yaitu FeCl₃ (1,45 gr), NaMo O₄ (0,253 gr), dan Akuades (1 L). Pengamatan pertumbuhan koloni bakteri dilakukan setelah diinkubasi selama 24 jam. Isolat yang mampu tumbuh pada media Burk menunjukkan bahwa isolat mampu menambat Nitrogen (Himedia, 2015).

b. Seleksi pelarut fosfat

Seleksi pelarut fosfat dilakukan dengan menumbuhkan seluruh koloni bakteri hasil eksplorasi pada media Pikovskaya. Komposisi media Pikovskaya terdiri dari Glukosa (10 gr), Ca₃HPO₄ (5 gr), (NH₄)₂SO₄ (0,5 gr), MnSO₄ (25 mg), KCl (0,2 gr), MgSO₄ 7H₂O (1 gr), FeSO₄ (25 mg), ekstrak Khamir (0,5 gr), dan Akuades (1 L). Isolat diamati setelah dilakukan inkubasi selama 5x24 jam pada suhu ruang. Kemampuan isolat dalam melarutkan fosfat ditandai oleh terbentuknya zona bening (*halozone*) di sekitar pertumbuhan koloni (Himedia, 2015).

c. Seleksi antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Seleksi antagonis merupakan suatu tahap yang dilakukan untuk memperoleh isolat bakteri yang memiliki potensi antagonis terhadap Xoo. Seleksi antagonis dilakukan dengan menggunakan metode sprai atau pengkabutan (Kawaguchi *et al.*, 2008). Kertas saring steril berdiameter 0,5 cm dimasukkan ke dalam 1 ml suspensi bakteri yang diduga bersifat antagonis selama \pm 1 menit dan ditiriskan di atas tisu steril selama 3-5 jam. Selanjutnya, kertas saring di tanam pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah dilakukan inkubasi, bakteri hasil eksplorasi dimatikan sementara dengan cara memberi uap kloroform pada tutup cawan Petri

dalam keadaan terbalik selama 1 jam. Kemudian biakan disemprot dengan suspensi bakteri Xoo dan dilakukan inkubasi selama 24 jam. Hasilnya dapat dilihat melalui pengukuran diameter zona hambat (zona bening) yang terbentuk.

3.4.3 Uji Penghambatan terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*in vitro*)

Uji antagonis dilakukan terhadap bakteri rizosfer hasil uji sebelumnya yang memiliki potensi PGPR dan antagonisme terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri rizosfer sebagai agens bioprotektan terhadap penyakit hawar daun bakteri pada padi. Uji antagonis dilakukan dengan menggunakan metode sprai atau pengkabutan (Kawaguchi *et al.*, 2008). Pada uji antagonis secara *in vitro* dilakukan dengan 7 perlakuan dan 4 ulangan, dengan 5 perlakuan bakteri antagonis, perlakuan kontrol positif dengan menggunakan bakterisida berbahan aktif streptomycin sulfat (Khan, *et al.*, 2006) (Tabel 1), dan perlakuan kontrol negatif dengan akuades steril. Rancangan percobaan yang digunakan yakni menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 2x24 jam. Pengamatan berdasarkan indikator yaitu adanya zona bening yang terbentuk antara kedua bakteri yang tumbuh pada saat 1 dan 2 HSI (hari setelah inokulasi).

Tabel 1. Perlakuan uji antagonis bakteri rizosfer terhadap Xoo

Perlakuan	PGPR (cfu/ml)	Xoo (cfu/ml)	Streptomycin
A5	10^9	10^9	0
A6	10^9	10^9	0
A7	10^9	10^9	0
A9	10^9	10^9	0
B8	10^9	10^9	0
P1	0	10^9	200 mg/ml

Keterangan : A5 (Perlakuan 1), A6 (Perlakuan 2), A7 (Perlakuan 3), A9 (Perlakuan 4), B8 (Perlakuan 5), P1 (Perlakuan 6 = kontrol positif)

3.4.4 Uji Penekanan terhadap Perkembangan Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi secara *in vivo*

Penelitian bertujuan untuk mengetahui tingkat kemampuan bakteri antagonis hasil seleksi dalam menekan hawar daun bakteri pada padi secara *in vivo* (skala *green house*). Percobaan yang dilakukan yaitu menggunakan Rancangan Acak Kelompok sebanyak 7 perlakuan dan 4 ulangan yaitu perlakuan kontrol positif dengan bakterisida bahan aktif streptomycin sulfat (Khan *et al.*, 2006), perlakuan kontrol negatif dengan akuades steril, dan 5 perlakuan dari 5 isolat bakteri antagonis hasil seleksi, dengan masing-masing ulangan menggunakan 10 sampel daun tanaman padi. Berikut langkah-langkah dalam uji penekanan patogen Xoo secara *in vivo* :

a. Penanaman Tanaman Padi

Penanaman padi dilakukan di *green house* dengan menggunakan polybag. Bahan tanam yang digunakan yaitu padi varietas IR-64, karena diduga merupakan salah satu varietas padi yang rentan terhadap HDB. Media tanam yang digunakan yaitu tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1 yang disterilisasi dengan formalin 4%. Pemeliharaan tanaman dilakukan setiap hari sekali, meliputi penyiraman, penyiangan gulma, pemupukan, dan pengendalian hama. Pupuk yang akan digunakan yaitu NPK sesuai dosis yang dianjurkan.

b. Persiapan Bakteri

Bakteri hasil eksplorasi dipurifikasi dan diinkubasi pada media NA. Bakteri dibuatkan suspensi terlebih dahulu. Suspensi bakteri yang digunakan yaitu dengan kerapatan 10^9 cfu/ml.

c. Inokulasi Bakteri Antagonis

Inokulasi bakteri antagonis dilakukan pada tanaman berumur 5 MST (minggu setelah tanam) dengan metode *pin prick* modifikasi dari Volksch dan May (2001). Daun tanaman padi yang akan diberi perlakuan dilubangi terlebih dahulu dengan jarum sebanyak 3 lubang setiap daun. Penyemprotan dilakukan pada bagian daun dengan menggunakan *sprayer* hingga terbentuk butiran semprotan yang terlihat oleh mata. Daun yang telah disemprot kemudian disungkup dengan plastik selama 24 jam. Selain itu, untuk mengetahui efek PGPR pada pertumbuhan tanaman, dilakukan juga aplikasi bakteri dengan cara

menyiramkan 20 ml suspensi bakteri pada tanah sekitar perakaran tanaman padi (Gul *et al.*, 2008).

d. Inokulasi Bakteri Patogen Xoo

Persiapan suspensi bakteri dilakukan 2 hari sebelum inokulasi. Inokulasi dilakukan sehari setelah dilakukan inokulasi bakteri antagonis. Suspensi bakteri yang digunakan yaitu kerapatan 10^9 cfu/ml. Cara inokulasi bakteri patogen Xoo sama dengan inokulasi bakteri antagonis yaitu dengan metode *pin prick* modifikasi dari Volksch dan May (2001). Daun tanaman padi yang diberi perlakuan dilubangi terlebih dahulu dengan jarum sebanyak 3 lubang setiap daun. Penyemprotan dilakukan pada bagian daun yang dilubangi sebelumnya dengan menggunakan *sprayer* hingga terbentuk butiran semprotan yang terlihat oleh mata. Selanjutnya daun yang telah disemprot disungkup dengan plastik selama 24 jam. Aplikasi bakteri dilakukan pada tanaman padi berumur 5 MST. Perlakuan dan pengamatan dilakukan pada 10 daun sampel per ulangan.

3.4.5 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Hasil Seleksi

Identifikasi bakteri hasil eksplorasi berpedoman pada *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) untuk mengetahui genus bakteri rizosfer yang ditemukan (Gambar 3). Berikut beberapa metode yang digunakan untuk identifikasi:

a. Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif bertujuan untuk mengetahui bakteri rizosfer yang diuji bersifat patogen atau tidak terhadap tanaman. Uji dilakukan dengan menginokulasi bakteri hasil seleksi pada tanaman tembakau. Pemilihan tanaman tembakau sebagai tanaman percobaan karena tembakau memiliki sifat yang rentan dan sensitif terhadap patogen daripada tanaman lain. Cara menginokulasi dengan cara melukai daun tanaman tembakau menggunakan jarum suntik aseptik kemudian menginfiltrasikan suspensi bakteri dengan spuit tanpa jarum suntik. Suspensi yang digunakan berumur 24 jam. Pengamatan reaksi hipersensitif dilakukan 24 sampai 72 jam setelah inokulasi. Jika pada bagian yang diinokulasi terjadi gejala nekrosis, maka bakteri tergolong ke dalam jenis bakteri patogen terhadap tanaman (Fahy dan Persley, 1983).

b. Uji Gram

- Pewarnaan Gram

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri dengan menggunakan jarum Ose dan diletakkan pada *object glass* steril yang sebelumnya telah ditetesi akuades steril 1 tetes, kemudian dikeringkan di atas Bunsen. Isolat ditetesi dengan larutan kristal violet 5% sebanyak 2-3 tetes didiamkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Kemudian ditetesi dengan iodine sebanyak 1-2 tetes didiamkan selama 1 menit lalu disemprot dengan alkohol 70% diamkan 20 detik, dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Tahap terakhir yakni isolat ditetesi dengan larutan safranin 0,15 dan didiamkan selama 20 detik, dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya isolat diamati dengan mikroskop. Bakteri dengan Gram positif akan menunjukkan warna ungu dan bakteri dengan Gram negatif akan berwarna merah (Hadioetomo, 1993).

- Uji KOH 3%

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri dengan menggunakan jarum Ose dan diletakkan pada *object glass* yang telah ditetesi KOH 3%. Suspensi bakteri pada *object glass* kemudian ditarik-tarik dengan jarum Ose secara cepat dan berulang-ulang. Perlakuan KOH 3% terhadap massa bakteri Gram negatif akan menyebabkan rusaknya dinding sel bakteri dan melepas DNA yang merupakan komponen yang bersifat viscid atau seperti lendir. Bakteri dengan Gram negatif akan nampak lendir pada saat diangkat/ditarik, sedangkan bakteri dengan Gram positif akan tetap encer atau tidak menunjukkan reaksi spesifik (Lay, 1994).

c. Uji Oksidatif-Fermentatif (OF)

Uji OF bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri bersifat aerob atau anaerob. Bahan-bahan media OF antara lain pepton 2g; NaCl 3g; agar 3g; bromotymol blue 1% 3 ml; dan KH₂PO₄ 0,3g. Seluruh bahan dilarutkan dan diatur pada pH 7,1 serta dituangkan ke dalam tabung reaksi berdiameter 13 mm sebanyak 4,5 ml/tabung. Selanjutnya sterilisasi media pada 121°C selama 20 menit. Setelah steril, setiap tabung ditambah larutan glukosa 10% sebanyak 0,5 ml.

Pengujian dilakukan dengan cara menginokulasi bakteri dengan menusukkan pada 2 media dengan jarum Ose, yaitu media dengan penutup parafin cair 1 ml (anaerob) dan media tanpa penutup parafin cair. Diinkubasi pada suhu ruang dan diamati perubahan warna yang terjadi dari biru menjadi kuning. Apabila pada media yang ditutupi parafin cair berubah warna maka perubahan tersebut menunjukkan reaksi fermentatif, sedangkan jika yang berubah terdapat pada tabung tanpa parafin maka menunjukkan reaksi oksidatif (Hadioetomo, 1993).

d. Uji Katalase

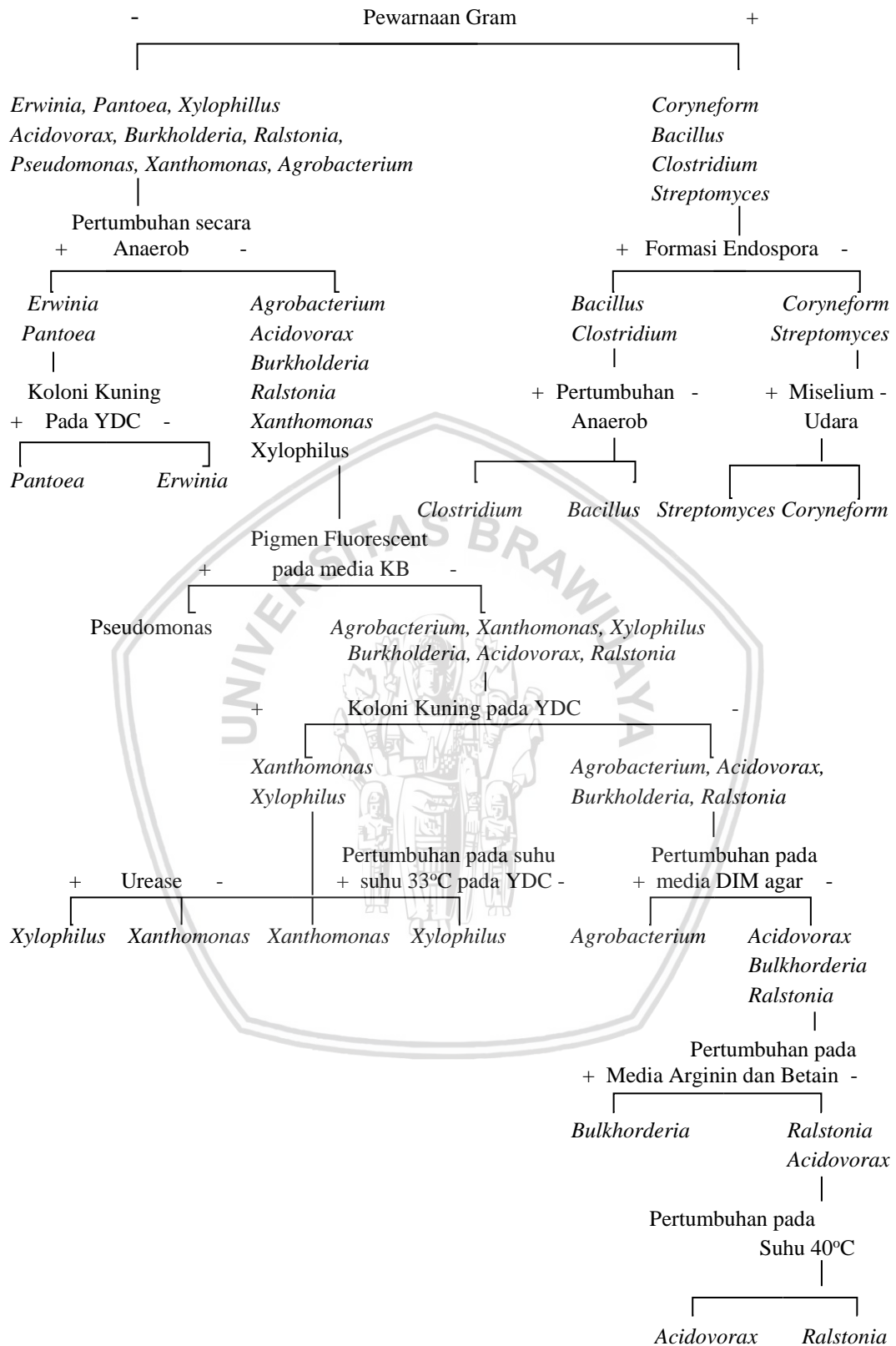
Pengujian dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri dengan menggunakan jarum Ose dan diletakkan pada *object glass* dan ditetesi dengan H_2O_2 3%. Reaksi positif ditandai dengan adanya gelembung udara yang terbentuk karena bakteri yang diuji memiliki enzim katalase yang mampu mengubah H_2O_2 menjadi air dan oksigen (Hadioetomo, 1993).

e. Pigmen Fluorencens

Pengujian dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media selektif King's B dan diinkubasi 24-48 jam. Media King's B terdiri dari protease pepton 20g; K_2HPO_4 1,5g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1,5g; gliserol 15 ml; dan agar 15g. Kemudian bakteri diamati di bawah sinar UV. Jika bakteri nampak berpendar maka bakteri mampu memproduksi pigmen fluorescent dan sebaliknya. Koloni bakteri yang berpendar dimasukkan ke dalam genus *Pseudomonas*.

f. Media Selektif YDC

Pengujian dilakukan untuk mengetahui bakteri masuk ke dalam genus *Xylophilus* dan *Xanthomonas* atau tidak, dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media selektif YDC. Komposisi media YDC yaitu *yeast* 10g; glukosa 20g; CaCO_3 20g; dan agar 15g dalam akuades 1 L. Jika bakteri uji yang ditumbuhkan bereaksi positif (berwarna kuning) setelah inkubasi maka bakteri dapat digolongkan pada genus *Xanthomonas*.



Gambar 3. Diagram pengujian bakteri hingga tingkat Genus (Schaad *et al.*, 2001)

3.5 Variabel Pengamatan

a. Indikator aktivitas penambatan nitrogen dan pelarutan fosfat

Kemampuan bakteri hasil seleksi dalam menambat nitrogen dapat dilihat dari tumbuhnya bakteri pada media Burk. Kemampuan bakteri sebagai pelarut fosfat dapat dilihat dari terbentuknya zona bening (*halozone*) pada media Pikovskaya. Hasil seleksi kemudian didokumentasikan dengan kamera.

b. Pengamatan zona hambat bakteri antagonis terhadap bakteri patogen Xoo secara *in vitro*

Variabel uji antagonis secara *in vitro* berupa zona bening atau zona penghambatan yang dihasilkan oleh bakteri hasil seleksi pada media NA. Zona bening yang terbentuk kemudian diukur diameternya menggunakan penggaris. Perhitungan daya hambat menggunakan rumus menurut Wuryandari *et al.*, (2008) yang telah dimodifikasi, yaitu :

$$R = \frac{((Dv - 0,5) + (Dh - 0,5))}{2}$$

Keterangan:

Dv : Diameter zona bening vertikal

Dh : Diameter zona bening horizontal

0,5 : Diameter koloni agens hayati

Berdasarkan hasil perhitungan, daya antibakteri dari diameter zona hambat terbagi menjadi empat kategori yaitu sangat kuat (zona bening lebih dari 20 mm), kuat (zona bening 10-20 mm), sedang (zona bening 5-10 mm), dan lemah (zona bening kurang dari 5 mm) (Davis dan Stout, 1971).

c. Pertumbuhan dan Intensitas penyakit (IP)

Variabel pengamatan berupa tinggi tanaman, jumlah daun, panjang akar, dan intensitas penyakit. Pengamatan dilakukan pada 5 – 20 hari setelah inokulasi Xoo dan bakteri antagonis. Pengamatan dilakukan 5 hari sekali dan dilakukan 4 kali pengamatan. Untuk intensitas penyakit dapat diukur menggunakan rumus intensitas penyakit (IP) mutlak. Perhitungan Intensitas penyakit menggunakan rumus menurut (Khaeruni *et al.*, 2014) sebagai berikut:

$$IP = \frac{a}{a + b} \times 100\%$$

keterangan :

IP : intensitas penyakit

a : jumlah daun yang terserang penyakit

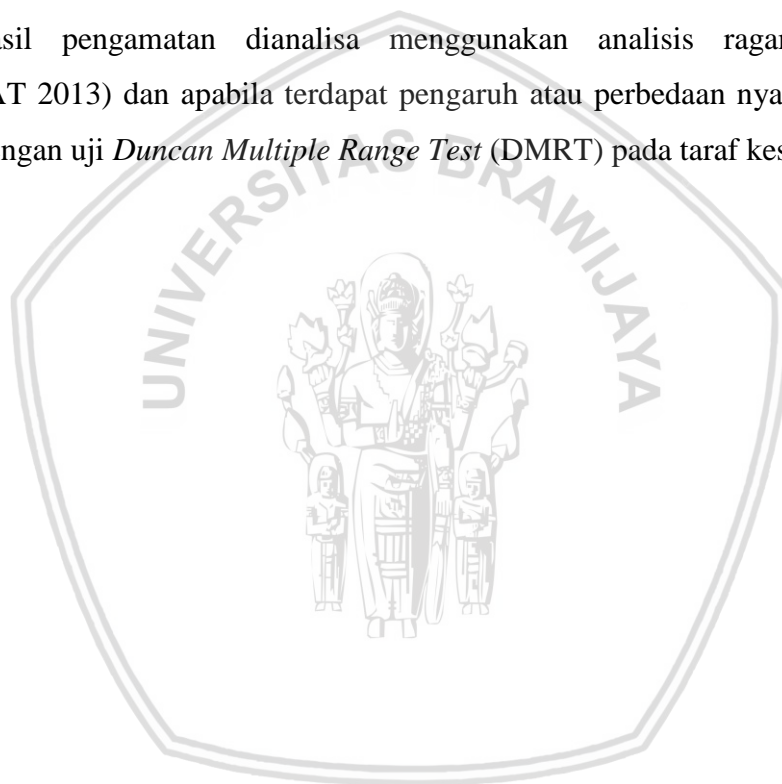
b : jumlah daun yang sehat

d. Pengamatan hasil karakterisasi dan identifikasi bakteri

Variabel pengamatan berupa seluruh dokumentasi karakterisasi dan identifikasi bakteri hasil seleksi dengan menggunakan kamera.

3.6 Analisis Data

Hasil pengamatan dianalisa menggunakan analisis ragam ANOVA (DSTAAT 2013) dan apabila terdapat pengaruh atau perbedaan nyata akan diuji lanjut dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kesalahan 5%.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Seleksi Bakteri Rizosfer sebagai PGPR dan Agens Antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Hasil eksplorasi bakteri rizosfer yang dilakukan pada tanah tumbuhan famili Cyperaceae (*Cyperus iria* dan *Cyperus difformis*) di kawasan UB Forest diperoleh 41 isolat bakteri berdasarkan perbedaan morfologi koloni bakteri. Seleksi bakteri rizosfer dilakukan untuk mengetahui potensinya sebagai PGPR dan agens antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

a. Bakteri Penambat Nitrogen

Bakteri hasil eksplorasi sebanyak 41 isolat ditumbuhkan pada media Burk. Bakteri yang mampu berperan sebagai penambat nitrogen dapat diketahui dari kemampuan bakteri yang tumbuh dengan baik pada media Burk. Hasil seleksi bakteri sebagai penambat nitrogen disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil seleksi bakteri hasil eksplorasi sebagai penambat nitrogen pada media Burk ¹⁾

Kode Isolat	Kete-rangan	Kode Isolat	Kete-rangan	Kode Isolat	Kete-rangan	Kode Isolat	Kete-rangan
A1	+	A12	+	B1	+	B12	+
A2	+	A13	+	B2	+	B13	-
A3	+	A14	+	B3	+	B14	-
A4	+	A15	-	B4	+	B15	+
A5	+	A16	+	B5	+	B16	-
A6	+	A17	+	B6	-	B17	+
A7	+	A18	+	B7	+	B18	+
A8	+	A19	+	B8	+	B19	+
A9	+	A20	-	B9	+		
A10	+	A21	-	B10	+		
A11	-	A22	+	B11	+		

¹⁾ (+) bereaksi positif/tumbuh, (-) bereaksi negatif/tidak tumbuh

Data pada tabel 2 menunjukkan bahwa 80% atau 33 isolat bakteri dari 41 isolat bakteri hasil eksplorasi mampu tumbuh pada media Burk. Dengan demikian, sebagian besar bakteri hasil eksplorasi bersifat sebagai penambat nitrogen. Salah satu jenis bakteri yang dapat menambat nitrogen dari atmosfer adalah bakteri rizosfer (Handayanto dan Hairiah, 2007). Bakteri penambat

nitrogen lebih banyak ditemukan di daerah rizosfer dibandingkan non-rizosfer (Franche *et al.*, 2009).

Bakteri rizosfer merupakan bakteri yang hidup di daerah perakaran tanaman yang dapat mengikat N_2 bebas di udara yang kemudian mereduksinya menjadi senyawa ammonia. Kemampuan bakteri dalam melakukan penambatan nitrogen disebabkan oleh aktivitas nitrogenase (Buchanan *et al.*, 2000). Dua molekul ion NH_3^{3+} yang dapat diserap oleh tanaman dihasilkan oleh bakteri pengikat nitrogen yang mengikat nitrogen dari udara dengan bantuan enzim nitrogenase (Andayaningsih, 2000).

b. Bakteri Pelarut Fosfat

Bakteri hasil eksplorasi sebanyak 41 isolat ditumbuhkan pada media Pikovskaya. Bakteri yang mampu berperan sebagai pelarut fosfat dapat diketahui dari kemampuan bakteri yang dapat membentuk zona bening di sekitar bakteri. Hasil seleksi bakteri sebagai pelarut fosfat disajikan dalam tabel 3.

Tabel 3. Hasil seleksi bakteri hasil eksplorasi sebagai pelarut fosfat pada media Pikovskaya ¹⁾

Kode Isolat	Kete-rangan	Kode Isolat	Kete-rangan	Kode Isolat	Kete-rangan	Kode Isolat	Kete-rangan
A1	-	A12	-	B1	-	B12	+
A2	-	A13	+	B2	-	B13	-
A3	-	A14	+	B3	-	B14	-
A4	-	A15	-	B4	-	B15	+
A5	+	A16	+	B5	-	B16	-
A6	+	A17	+	B6	-	B17	-
A7	+	A18	+	B7	+	B18	+
A8	+	A19	-	B8	+	B19	+
A9	+	A20	-	B9	-		
A10	-	A21	-	B10	-		
A11	+	A22	-	B11	-		

¹⁾ (+) menghasilkan zona bening, (-) tidak menghasilkan zona bening

Data pada tabel 3 menunjukkan bahwa 41% atau 17 isolat bakteri dari 41 isolat bakteri hasil eksplorasi mampu membentuk zona bening pada media Pikovskaya yang berarti berperan sebagai bakteri pelarut fosfat (BPF). Widawati dan Suliasih (2006) menyatakan bahwa populasi bakteri pelarut fosfat di daerah

rizosfer lebih banyak dibandingkan dengan daerah non-rizosfer karena akar mengekskresikan bahan organik yang dapat merangsang pertumbuhan bakteri.

Adanya *halozone* (zona bening) yang muncul di sekitar tempat bakteri ditumbuhkan pada media pikovskaya menandakan kemampuan bakteri melarutkan $\text{Ca}_3(\text{PO})_2$ (kalsium fosfat) menjadi ortofosfat (Widawati *et al.*, 2008). Bakteri hasil seleksi pada media pikovskaya mampu menghasilkan enzim fosfatase. Menurut Illmer and Schiner (1992) bakteri pelarut fosfat dapat menambah aktivitas penyerapan P pada tumbuhan, melarutkan mineral-mineral fosfat melalui sekresi asam organik dan melibatkan enzim fosfatase serta berperan dalam mentransfer energi, menyusun protein, koenzim, asam nukleat, dan senyawa-senyawa metabolik lain.

c. Bakteri Antagonis terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Bakteri hasil eksplorasi sebanyak 41 isolat ditumbuhkan pada media NA. Bakteri yang bersifat antagonis dapat diketahui dari kemampuan bakteri yang membentuk zona bening di sekitar bakteri sebagai indikator aktivitas penghambatan berupa antibiosis terhadap bakteri patogen. Hasil seleksi bakteri sebagai agens antagonis disajikan dalam tabel 4.

Tabel 4. Hasil seleksi bakteri hasil eksplorasi sebagai agens antagonis ¹⁾

Kode Isolat	Keterangan	Kode Isolat	Keterangan	Kode Isolat	Keterangan	Kode Isolat	Keterangan
A1	-	A12	-	B1	-	B12	-
A2	-	A13	-	B2	-	B13	-
A3	-	A14	-	B3	-	B14	-
A4	-	A15	-	B4	-	B15	-
A5	+	A16	-	B5	-	B16	-
A6	+	A17	-	B6	-	B17	-
A7	+	A18	-	B7	-	B18	-
A8	-	A19	-	B8	+	B19	-
A9	+	A20	-	B9	-		
A10	-	A21	-	B10	-		
A11	-	A22	-	B11	-		

¹⁾ (+) menghasilkan zona bening, (-) tidak menghasilkan zona bening

Data pada tabel 4 menunjukkan bahwa hanya 12% atau 5 isolat bakteri dari 41 isolat bakteri hasil eksplorasi yang mampu membentuk zona bening pada

media NA yaitu bakteri dengan kode isolat A5, A6, A7, A9, dan B8. Bakteri antagonis diduga memiliki senyawa antimikroba yang disekresikan oleh bakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*. Chermin dan Chet (2002) menyatakan bahwa efektivitas antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri antagonis mampu menyebabkan efektivitas penghambatan pada pertumbuhan mikroba lain.

4.2 Uji Penghambatan oleh Bakteri Hasil Eksplorasi terhadap

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* pada Cawan Petri

Hasil pengujian daya hambat (antagonis) bakteri hasil eksplorasi dapat dilihat pada Tabel 5. Hasil analisis statistik menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel lampiran 1). Hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh dari perlakuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri Xoo selama 2x24 jam.

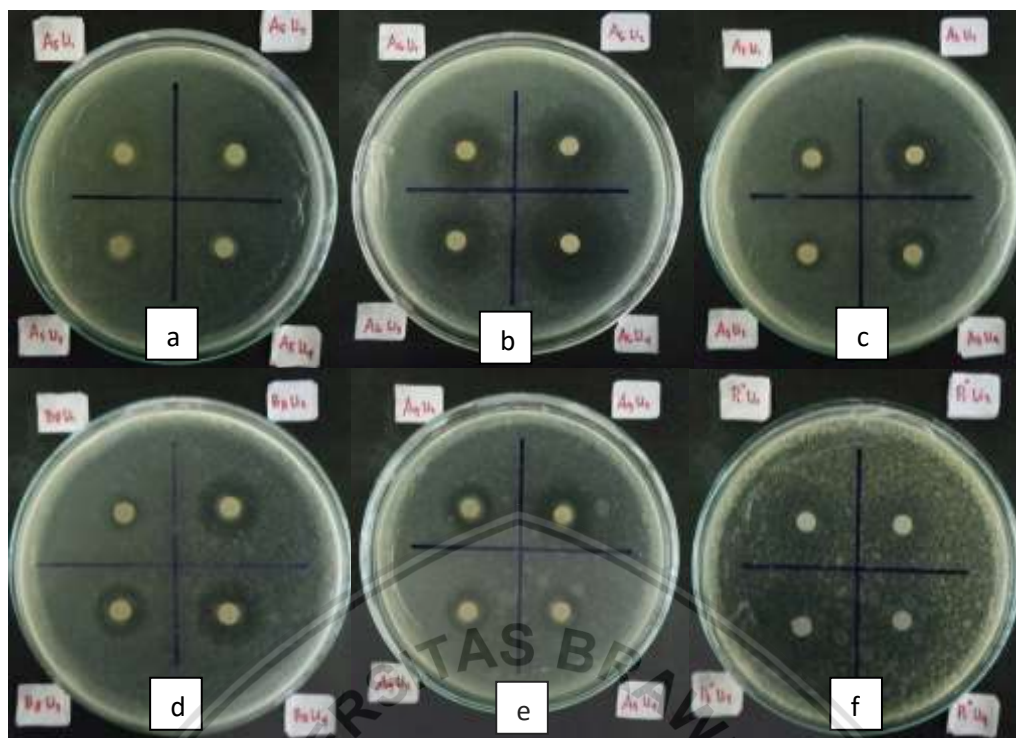
Tabel 5. Rerata zona hambat bakteri antagonis terhadap bakteri patogen Xoo

Perlakuan	Rerata zona hambat bakteri hasil eksplorasi terhadap Xoo (mm) pada 1 dan 2 HSI ¹⁾	
	1 ²⁾	2 ²⁾
Isolat A5	6,50a	6,50a
Isolat A6	14,25e	14,25e
Isolat A7	8,75c	8,75c
Isolat A9	9,50d	9,50d
Isolat B8	8,25b	8,25b
Streptomycin	9,75d	9,75d

¹⁾ Hari Setelah Inokulasi

²⁾ Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan dan kontrol positif menggunakan streptomycin

Berdasarkan hasil pengamatan 1 dan 2 HSI (Hari Setelah Inokulasi) diperoleh hasil yang sama. Semua isolat bakteri hasil eksplorasi mampu menghasilkan zona hambat. Isolat bakteri kode A6 memiliki nilai zona hambat yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan bakteri lainnya yaitu dengan rerata zona hambat sebesar 14,25 mm. Penampakan hasil uji hambat bakteri hasil eksplorasi terhadap bakteri patogen Xoo pada pengamatan hari ke-1 dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil pengujian antagonis bakteri hasil eksplorasi terhadap bakteri patogen Xoo pada cawan Petri hari ke - 1, (a) isolat A5 (b) isolat A6 (c) isolat A7 (d) isolat B8 (e) isolat A9 (f) streptomycin

Zona hambat yang terbentuk saat pengujian diduga karena bakteri bersifat antagonis terhadap bakteri patogen Xoo, dengan menghasilkan senyawa antibiosis tertentu yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Xoo. Menurut Cook dan Baker (1983) terdapat beberapa jenis bakteri yang mampu menghasilkan senyawa beracun yang didifusikan ke dalam media buatan (NA) yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroorganisme lain. Contoh senyawa tersebut antara lain antibiotik dan lipopeptide pada *B.subtilis* (Raaijmakers *et al.*, 2002). Secara umum agens hayati memiliki mekanisme penghambatan terhadap patogen dengan cara menghasilkan senyawa antibiotik, kompetisi terhadap nutrisi, maupun parasitisme langsung terhadap patogen (Soesanto, 2004). Beberapa jenis bakteri yang telah diketahui memiliki mekanisme penghambatan terhadap bakteri patogen antara lain *Pantoea* sp. (Damam *et al.*, 2014), *B.subtilis* (Raaijmakers *et al.*, 2002), *Pseudomonas* sp. (Long *et al.*, 2004); (Mourhofer *et al.*, 1995); (Adeline *et al.*, 2008), dan *Xanthomonas* sp. (Afizar and Parlina, 2017); (Patten and Glick, 2002).

4.3 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri PGPR

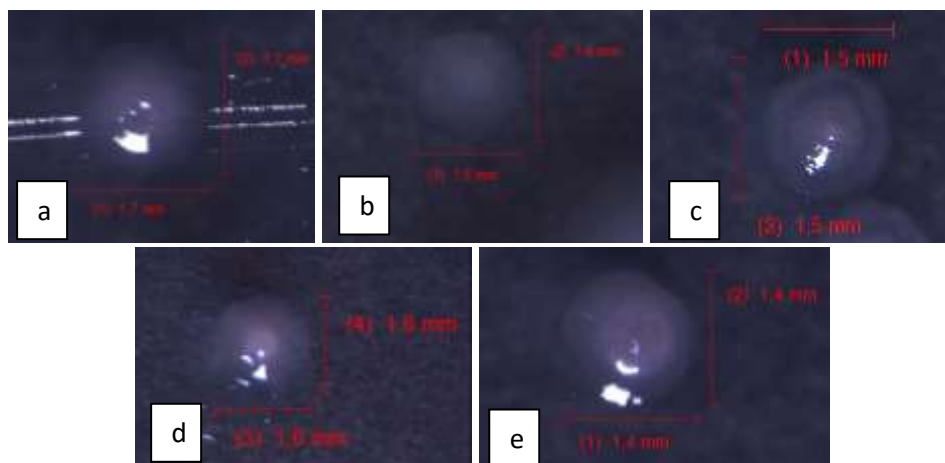
4.3.1 Karakteristik Morfologi

Karakterisasi morfologi dilakukan pada 5 isolat bakteri PGPR hasil seleksi penambatan nitrogen, pelarutan fosfat, dan uji antagonis. Bakteri yang diamati ditumbuhkan pada media NA dengan metode *streak* tunggal yang berumur 24 jam. Pengamatan morfologi koloni mengacu pada Cappucino (2005). Pengamatan meliputi bentuk, warna, tepi, elevasi, dan adanya mukoid pada koloni. Selain itu ada pengamatan morfologi sel meliputi bentuk sel bakteri dan Gram bakteri. Hasil pengamatan morfologi koloni dan morfologi sel dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Morfologi koloni tunggal dan morfologi sel bakteri PGPR

Isolat	Morfologi Koloni					Morfologi Sel	
	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi	Mukoid	Bentuk	Gram
A5	Bulat	Putih bening	Rata	Cembung	Ada	Basil	Negatif
A6	Lonjong	Putih kekuningan	Rata	Rata	Tidak ada	Basil	Negatif
A7	Bulat	Putih bening	Rata	Cembung	Ada	Basil	Negatif
A9	Bulat	Putih bening	Rata	Cembung	Ada	Basil	Negatif
B8	Bulat	Putih bening	Rata	Cembung	Ada	Basil	Negatif

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni dan morfologi sel yang telah dilakukan didapatkan hasil yang bervariasi. Hasil pengamatan morfologi koloni menunjukkan bahwa koloni bakteri berbentuk bulat yang mendominasi, hanya koloni isolat A6 yang berbeda yaitu berbentuk lonjong. Warna koloni didominasi oleh warna putih bening, kecuali warna koloni bakteri A6 yaitu berwarna putih kekuningan. Semua koloni bakteri memiliki tepi yang rata. Elevasi koloni bakteri ada 2 macam, yaitu koloni bakteri A6 berelevasi rata dan koloni bakteri A5, A7, B8 dan A9 berelevasi cembung. Semua isolat bersifat mukoid kecuali isolat A6. Sedangkan untuk hasil pengamatan morfologi sel menunjukkan bahwa semua sel bakteri berbentuk basil (batang) dan bersifat Gram negatif. Berikut adalah gambar penampakan morfologi koloni tunggal 5 isolat bakteri yang diamati di bawah mikroskop (Gambar 5).



Gambar 5. Morfologi koloni tunggal bakteri PGPR, (a) bakteri kode A5 (b) bakteri kode A6 (c) bakteri kode A7 (d) bakteri kode A9 (e) bakteri kode B8

Selain pengamatan morfologi, dilakukan juga pengamatan secara fisiologi dan biokimia yang mengacu pada metode identifikasi menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001). Hasil pengamatan fisiologi dan biokimia tersebut dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji fisiologi dan biokimia isolat bakteri antagonis

Uji fisiologi dan biokimia	A5	A6	A7	A9	B8
Uji hipersensitif	-	-	-	-	-
Uji reaksi gram:					
a. Pewarnaan gram	-	-	-	-	-
b. KOH 3%	+	+	+	+	+
Bentuk	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
Uji Katalase	+	+	+	+	+
Oksidatif-fermentatif	F	O	F	O	O
Pertumbuhan pada media YDC	+	TU	+	TU	TU
Pertumbuhan pada media YDC suhu 33°C	TU	+	TU	TU	TU
Uji Fluorescens pada media King'B	TU	-	TU	+	+

Keterangan: (+) reaksi positif, (-) reaksi negatif, F = fermentatif, O = oksidatif, TU = tidak uji

Pengamatan dilakukan untuk mengidentifikasi jenis bakteri pada tingkat genus dengan melalui beberapa tahap pengamatan yaitu uji hipersensitif, uji reaksi Gram, uji katalase, uji oksidatif - fermentatif, dan pertumbuhan pada media YDC dan King's B.

4.3.2 Karakteristik Fisiologi dan Biokimia

1. Hipersensitif

Hasil uji hipersensitif yang dilakukan pada tanaman tembakau umur 3 bulan menunjukkan reaksi negatif terhadap lima isolat bakteri PGPR. Inokulasi bakteri PGPR tidak menimbulkan gejala nekrosis pada daun tembakau setelah diinkubasi selama 3-7 hari. Area daun tembakau bekas suntikan inokulasi bakteri tetap berwarna hijau dan tidak berubah warna. Agrios (2004) menyatakan bahwa jika bakteri yang diinokulasikan pada daun tanaman tembakau tidak menimbulkan gejala nekrosis maka bakteri tersebut tidak patogenik terhadap tanaman, namun jika bakteri yang diinokulasi pada daun tembakau menimbulkan gejala nekrosis dalam rentang waktu tertentu maka bakteri tersebut bersifat patogenik terhadap tanaman. Menurut Kaewnum *et al.* (2005) gejala hipersensitif dapat muncul 12 jam setelah inokulasi, dan dapat terlihat jelas pada 3 - 4 hari setelah inokulasi. Hasil uji hipersensitif isolat bakteri pada daun tembakau dapat dilihat pada Gambar 6.



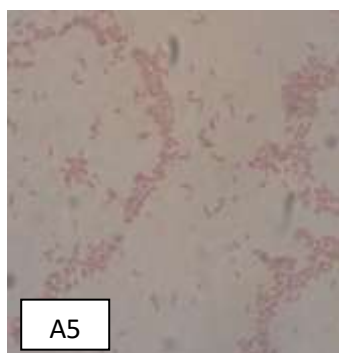
Gambar 6. Hasil uji hipersensitif 3 HSI pada daun tembakau

2. Pengujian Gram

Pewarnaan Gram

Hasil pewarnaan Gram 5 isolat bakteri antagonis menunjukkan warna merah ketika diamati di bawah mikroskop yang berarti bahwa 5 isolat bakteri tergolong ke dalam bakteri Gram negatif. Hadioetomo (1993) menyatakan bahwa bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu yang berarti bahwa bakteri tersebut mampu mengikat warna kristal violet, sedangkan bakteri Gram negatif ditandai dengan warna merah muda yang berarti bahwa bakteri tersebut tidak mampu mengikat warna kristal violet dan hanya terwarnai oleh safranin (berwarna

merah). Penampakkan sel isolat bakteri hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Sel bakteri hasil uji pewarnaan Gram bakteri A5

Uji KOH 3%

Pengujian KOH 3% pada 5 isolat bakteri antagonis menunjukkan bahwa semua bakteri tersebut bersifat Gram negatif yang ditandai dengan adanya lendir ketika masa bakteri diangkat ke atas menggunakan jarum Ose. Hasil uji KOH 3% pada bakteri antagonis dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Hasil uji KOH 3% terhadap isolat bakteri A9

Menurut Schaad *et al.* (2001) uji KOH 3% terhadap bakteri dapat menunjukkan sifat Gram positif atau Gram negatif pada bakteri. Bakteri Gram negatif ditandai dengan adanya lendir yang lengket dan seperti benang ketika masa bakteri diangkat ke atas menggunakan jarum Ose. Sedangkan untuk bakteri Gram positif bersifat lebih encer dan tidak tampak adanya lendir ketika diangkat ke atas menggunakan jarum Ose. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan lemak yang tipis, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang tipis dan lemak yang tebal. Sehingga senyawa KOH yang dicampurkan dapat menyerang lemak dan memecah dinding sel bakteri Gram negatif yang mengakibatkan lepasnya materi genetik yang merupakan substansi melimpah pada

bakteri. Cairan lengket seperti lendir tersebut merupakan molekul DNA bakteri yang panjang dan bersifat *sticky string* (seperti lendir atau getah dan lengket).

3. Uji Katalase

Uji katalase merupakan pengujian yang bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri yang diuji mampu menghasilkan enzim katalase atau tidak. Hasil uji katalase 5 isolat bakteri antagonis menunjukkan reaksi positif yaitu terbentuknya gelembung udara (Gambar 9).



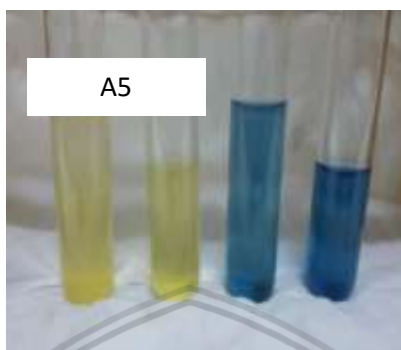
Gambar 9. Hasil uji katalase terhadap isolat bakteri A9

Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa semua isolat bakteri yang diuji memiliki enzim katalase yang dapat mengubah hydrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen, sehingga terbentuk gelembung udara pada koloni bakteri yang ditetesi H_2O_2 . Menurut Hadioetomo (1993) dan Lay (1994) reaksi positif ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung oksigen yang berarti bahwa bakteri yang diuji menghasilkan enzim katalase dengan merubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen.

4. Uji Oksidatif - Fermentatif

Pengujian Oksidatif - Fermentatif terhadap 5 isolat bakteri antagonis diperoleh hasil bahwa ada 2 isolat bakteri yakni isolat kode A5 dan isolat kode A7 yang menunjukkan reaksi positif, ditandai dengan perubahan warna media yang semula berwarna biru menjadi kuning pada kedua tabung. Sedangkan 3 isolat bakteri lainnya menunjukkan reaksi negatif, ditandai dengan warna medium yang tetap berwarna biru pada tabung dengan parafin. Berdasarkan hasil tersebut mengindikasikan bahwa isolat bakteri kode A5 dan A7 bersifat fermentatif sedangkan isolat bakteri kode A6, A9, dan B8 bersifat oksidatif. Menurut Schaad *et al.* (2001) bahwa jika terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada tabung media maka terjadi reaksi positif yang mengindikasikan pertumbuhan

anaerob atau bersifat fermentatif. Namun jika tidak terjadi perubahan warna pada tabung media, maka mengindikasikan reaksi negatif untuk pertumbuhan aerob atau bersifat oksidatif. Hasil uji Oksidatif - Fermentatif pada isolat bakteri A5 yang menunjukkan reaksi positif dapat dilihat dari Gambar 10.



Gambar 10. Hasil uji Oksidatif - Fermentatif terhadap isolat bakteri A5

4.4.3 Hasil Identifikasi Bakteri Antagonis

a. Isolat *Pantoea* strain 5

Isolat bakteri kode A5 memiliki bentuk bulat, warna putih bening, tepian rata, permukaan cembung, dan terdapat mukoid. Pada pengujian fisiologi dan biokimia diketahui bahwa bakteri A5 tergolong ke dalam bakteri Gram negatif, berbentuk batang (basil), bersifat fermentatif, berwarna kuning pada media YDC, dan bereaksi positif pada uji katalase. Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan *Laboratory Guide for Identification of Bacteria* (Schaad *et al.*, 2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut dikelompokkan ke dalam genus *Pantoea* sp.

b. Isolat *Xanthomonas* strain 6

Isolat bakteri kode A6 berbentuk lonjong, berwarna putih kekuningan, tepian dan permukaan rata, serta tidak terdapat mucoid pada koloni. Pada pengujian fisiologi dan biokimia diketahui bahwa bakteri A6 tergolong ke dalam bakteri Gram negatif, berbentuk batang (basil), bersifat oksidatif, bereaksi positif pada media YDC 33⁰C, dan bereaksi positif pada uji katalase. Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan *Laboratory Guide for Identification of Bacteria* (Schaad *et al.*, 2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut dikelompokkan ke dalam genus *Xanthomonas* sp.

c. Isolat *Pantoea* strain 7

Isolat bakteri kode A7 berbentuk bulat, berwarna putih bening, tepian rata, permukaan cembung, dan terdapat mukoid. Pada pengujian fisiologi dan biokimia diketahui bahwa bakteri A7 tergolong ke dalam bakteri Gram negatif, berbentuk batang (basil), bersifat fermentatif, berwarna kuning pada media YDC, dan bereaksi positif pada uji katalase. Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan *Laboratory Guide for Identification of Bacteria* (Schaad *et al.*, 2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut dikelompokkan ke dalam genus *Pantoea* sp.

d. Isolat *Pseudomonas* strain 9

Isolat bakteri kode A9 memiliki bentuk bulat, warna putih bening, tepian rata, permukaan cembung, dan terdapat mukoid. Pada pengujian fisiologi dan biokimia diketahui bahwa bakteri A9 tergolong ke dalam bakteri Gram negatif, berbentuk batang (basil), bersifat oksidatif, berpendar pada media King's B, dan bereaksi positif pada uji katalase. Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan *Laboratory Guide for Identification of Bacteria* (Schaad *et al.*, 2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut dikelompokkan ke dalam genus *Pseudomonas* sp.

e. Isolat *Pseudomonas* strain 8

Isolat bakteri kode B8 memiliki bentuk bulat, warna putih bening, tepian rata, permukaan cembung, dan terdapat mukoid. Pada pengujian fisiologi dan biokimia diketahui bahwa bakteri B8 tergolong ke dalam bakteri Gram negatif, berbentuk batang (basil), bersifat oksidatif, berpendar pada media King's B dan bereaksi positif pada uji katalase. Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan *Laboratory Guide for Identification of Bacteria* (Schaad *et al.*, 2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut dikelompokkan ke dalam genus *Pseudomonas* sp.

4.4 Pengujian Penekanan oleh Bakteri Antagonis terhadap Perkembangan Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi

4.4.1 Tinggi Tanaman

Pengamatan tinggi tanaman padi dilakukan sebanyak 4 kali pengambilan data. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tinggi tanaman

yang cukup signifikan antar perlakuan. Analisis statistik terhadap rerata tinggi tanaman padi (Tabel 8) menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel lampiran 2 sampai 5). Hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh dari perlakuan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi.

Tabel 8. Hasil analisis statistik rerata tinggi tanaman padi

Perlakuan	Rerata tinggi tanaman padi (cm) pada 1 - 20 HSI ¹⁾			
	1 ²⁾	2 ²⁾	3 ²⁾	4 ²⁾
Isolat A5	38,85a	41,59a	46,03a	51,41c
Isolat A6	40,84b	44,19b	46,41a	49,91b
Isolat A7	42,00c	44,47b	47,78b	51,38c
Isolat A9	44,09d	48,16c	51,69c	55,90e
Isolat B8	45,13e	48,72c	53,66d	56,09e
Streptomycin (P1)	39,28a	41,69a	45,94a	47,88a
Akuades (P2)	43,72d	48,31c	51,72c	53,50d

¹⁾ Hari Setelah Inokulasi

²⁾ Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan, kontrol positif menggunakan streptomycin, dan kontrol negatif dengan akuades steril

Perlakuan dengan bakteri PGPR kode isolat A9 dan B8 memiliki nilai tinggi tanaman padi tertinggi pada 20 HSI. Aplikasi bakteri PGPR mampu merangsang pertumbuhan tanaman karena PGPR dapat mengoptimalkan penyerapan dan pemanfaatan unsur hara N yang dibutuhkan tanaman dalam fase vegetatif. Lindung (2014) menyatakan bahwa PGPR berfungsi untuk meningkatkan penyerapan dan pemanfaatan nitrogen oleh tanaman. Unsur hara N berfungsi untuk menambah tinggi tanaman dan memacu pertunasan (Jumin, 2010).

Nilai tinggi tanaman padi pada perlakuan bakteri PGPR selain A9 dan B8 lebih rendah dibandingkan dengan tanaman dengan perlakuan kontrol akuades. Hasil yang demikian dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan. Faktor pertama yaitu perbedaan intensitas cahaya matahari yang masuk ke dalam *green house* dan diterima oleh tanaman padi yang dipengaruhi oleh adanya naungan. Menurut Syekhfani (2013) tanaman padi merupakan tanaman yang membutuhkan penyinaran matahari penuh tanpa naungan.

Faktor kedua yakni ketersediaan karbon (C) pada tanah juga sangat dibutuhkan oleh pertumbuhan bakteri PGPR terutama bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat. Kondisi lingkungan rizosfir yang sangat mempengaruhi aktivitas bakteri penambat N yakni ketersediaan senyawa karbon (C) yang

dibutuhkan (Curl dan Bryan, 1985). Bakteri pelarut fosfat dapat berkembang dengan baik pada tanah yang mengandung banyak bahan organik dan mineral tersedia sebagai karbon (Purwantari, 2008).

Faktor ketiga yaitu konsentrasi nitrogenase dalam isolat yang dapat mempengaruhi aktivitas nitrogenase. Aktivitas nitrogenase memiliki hubungan yang linier dengan konsentrasi nitrogenase dalam isolat. Semakin tinggi konsentrasi nitrogenase maka aktivitas nitrogenase pun akan semakin tinggi (Hardy *et al.* 1996).

Selain faktor intensitas matahari, ketersediaan karbon, dan konsentrasi nitrogenase, faktor lain yang juga berpotensi dalam mempengaruhi perkembangan tanaman yaitu zat kimia yang dikeluarkan oleh tanaman yang disebut eksudat akar. Masing-masing akar tanaman mengeluarkan zat eksudat dalam jumlah atau konsentrasi yang berbeda-beda. Eksudat akar mempengaruhi aktivitas dan pertumbuhan mikroorganisme tanah. Menurut Husen *et al.* (2014) masing-masing tanaman mengeluarkan eksudat akar dengan komposisi yang berbeda sehingga berperan dalam menyeleksi mikroba yaitu meningkatkan perkembangan mikroba tertentu dan menghambat perkembangan mikroba yang lain. Bais *et al.* (2006) juga menyatakan bahwa aktivitas mikroorganisme rizosfer dipengaruhi oleh zat eksudat yang ada pada rizosfer, kandungan eksudat akar tanaman merupakan salah satu faktor pertumbuhan bagi mikroorganisme.

4.4.2 Jumlah Daun

Pengamatan jumlah daun tanaman padi dilakukan sebanyak 4 kali pengambilan data. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah daun yang cukup signifikan antar perlakuan. Analisis statistik terhadap rerata jumlah daun tanaman padi (Tabel 9) menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel lampiran 6 sampai 9). Hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh dari perlakuan dalam meningkatkan jumlah daun tanaman padi.

Tabel 9. Hasil analisis statistik rerata jumlah daun tanaman padi

Perlakuan	Rerata jumlah daun tanaman padi pada 1 - 20 HSI ¹⁾			
	1 ²⁾	2 ²⁾	3 ²⁾	4 ²⁾
Isolat A5	18,00a	19,50a	20,75a	23,50a
Isolat A6	23,50d	24,00c	29,25c	30,75c
Isolat A7	24,50e	24,25c	30,25d	33,75e
Isolat A9	24,25e	25,00d	31,00e	32,25d
Isolat B8	25,25f	26,50e	32,25f	35,00f
Streptomycin (P1)	19,75b	19,75a	21,00a	24,00a
Akuades (P2)	20,75c	22,50b	23,00b	25,00b

¹⁾ Hari Setelah Inokulasi²⁾ Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan, kontrol positif menggunakan streptomycin, dan kontrol negatif dengan akuades steril

Perlakuan dengan bakteri PGPR kode A6, A7, A9, dan B8 memiliki jumlah daun yang lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan kontrol dengan bakterisida dan akuades. Sedangkan jumlah daun perlakuan bakteri PGPR kode A5 lebih sedikit dibandingkan dengan semua perlakuan. Bakteri PGPR yang mampu menambat nitrogen dengan baik dapat meningkatkan pertumbuhan daun pada tanaman. Bagi tanaman, nitrogen memiliki berbagai peranan penting, salah satunya yaitu menunjang pertumbuhan daun dan sebagai komponen pigmen klorofil yang dibutuhkan selama proses fotosintesis (Choudhury dan Kennedy, 2004). Namun ketersediaan nitrogen di dalam tanah terbatas sehingga proses penambatan nitrogen dari atmosfer mutlak diperlukan karena pada akhirnya semua kebutuhan nitrogen tanaman bergantung pada nitrogen yang ditambat dari atmosfer (Buchanan *et al.*, 2000). Khalimi dan Wirya (2009) menyatakan bahwa perlakuan bakteri PGPR mampu meningkatkan jumlah daun pada pertumbuhan tanaman.

4.4.3 Intensitas penyakit (IP)

Berdasarkan hasil pengamatan, intensitas penyakit yang terjadi cukup beragam antar perlakuan. Pengamatan dilakukan sebanyak 3 kali sejak awal inokulasi bakteri dan patogen hingga 20 HSI. Pengamatan dilakukan dengan cara melihat dan menghitung IP dari serangan HDB yang terjadi pada tanaman padi di bagian sampel daun yang telah diinokulasi bakteri PGPR dan Xoo. Berdasarkan

hasil analisis statistik intensitas penyakit (Tabel 10) menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel lampiran 10 sampai 12). Hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh dari perlakuan dalam menekan penyakit HDB tanaman padi pada 5 - 20 HSI.

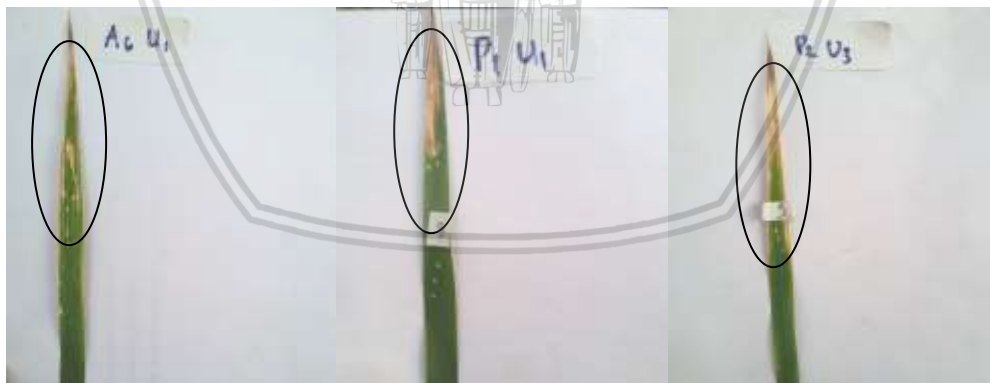
Tabel 10. Hasil analisis statistik intensitas penyakit pada tanaman padi

Perlakuan	Intensitas penyakit (%) pada 1 - 20 HSI ¹⁾		
	1 ²⁾	2 ²⁾	3 ²⁾
Isolat A5	37,5f	50,0f	55,0e
Isolat A6	20,0a	20,0a	22,5a
Isolat A7	27,5d	35,0d	35,0c
Isolat A9	22,5b	25,0b	27,5b
Isolat B8	25,0c	27,5c	27,5b
Streptomycin (P1)	35,0e	42,5e	42,5d
Akuades (P2)	75,0g	80,0g	85,0f

¹⁾ Hari Setelah Inokulasi

²⁾ Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan, kontrol positif menggunakan streptomycin, dan kontrol negatif dengan akuades steril

Gejala HDB yang muncul pada tanaman padi ditunjukkan pada Gambar 11 berikut ini:



Gambar 11. Gejala HDB yang muncul pada beberapa sampel daun padi pada 20 HSI, A6 (isolat bakteri A6); P1 (kontrol bakterisida); P2 (kontrol akuades)

Berdasarkan hasil pengamatan dapat diketahui bahwa semua perlakuan bakteri antagonis memiliki nilai intensitas penyakit yang lebih kecil jika dibandingkan dengan nilai intensitas penyakit pada perlakuan kontrol dengan akuades. Hal ini membuktikan bahwa 5 isolat bakteri antagonis hasil eksplorasi

dapat menekan perkembangan HDB pada tanaman padi. Perlakuan isolat bakteri kode A6, A7, A9, dan B8 memiliki nilai intensitas penyakit yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kontrol bakterisida. Hasil tersebut disebabkan oleh adanya senyawa antibiotik atau enzim tertentu yang dikeluarkan oleh bakteri antagonis sehingga dapat menekan perkembangan bakteri patogen *Xoo* penyebab HDB. Panagan (2011) menyatakan bahwa senyawa antibiotik merupakan senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme terutama bakteri dan jamur yang memiliki sifat mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang bersifat merugikan.

4.4.4 Panjang Akar

Pengamatan panjang akar tanaman padi dilakukan pada 20 HSI. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan panjang akar tanaman padi antar perlakuan. Analisis statistik terhadap panjang akar tanaman padi (Tabel 11) menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel lampiran 13). Hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh dari perlakuan dalam meningkatkan pertumbuhan akar tanaman padi.

Tabel 11. Hasil analisis statistik rerata panjang akar tanaman padi

Perlakuan	Rerata panjang akar tanaman padi (cm) pada 20 HSI ¹⁾
Isolat A5	26,31d
Isolat A6	19,63a
Isolat A7	27,75e
Isolat A9	29,19f
Isolat B8	30,00g
Streptomycin (P1)	23,50c
Akuades (P2)	22,63b

¹⁾ Hari Setelah Inokulasi

²⁾ Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan dan kontrol positif menggunakan streptomycin

Berdasarkan hasil analisis statistik dapat disimpulkan bahwa perlakuan dengan isolat bakteri PGPR kode A5, A7, A9, dan B8 memiliki akar yang lebih panjang dibandingkan pada perlakuan kontrol. Perbedaan panjang akar dapat disebabkan oleh aplikasi bakteri PGPR yang mampu meningkatkan panjang akar tanaman karena bakteri PGPR mampu mengkoloni perakaran tanaman, sehingga akar tanaman mampu menyerap hasil sekresi mikroba lain yang bermanfaat bagi

pertumbuhan akar. Bakteri PGPR dapat membantu dan meningkatkan pertumbuhan tanaman serta dapat bersimbiosis dengan tanaman dengan cara mengkolonisasi akar tanaman (Hayat *et al*, 2010). Hal ini menunjukkan semakin banyak dan panjang akar tanaman maka unsur hara yang diserap oleh tanaman juga semakin baik, sehingga menjadi penunjang dalam pertumbuhan tanaman. Sitompul dan Guritno (1995) menyatakan bahwa semakin banyak akar yang terbentuk maka tanaman yang dihasilkan akan semakin baik. Bakteri PGPR mampu memproduksi hormon IAA yang menginduksi tanaman secara langsung dan meningkatkan laju pertumbuhan tanaman (Maor *et al.*, 2004).

4.5 Pembahasan Umum

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lima isolat bakteri PGPR mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pada cawan Petri (*in vitro*) dengan hasil persentase penghambatan tertinggi dihasilkan oleh isolat bakteri kode A6. Uji penekanan perkembangan hawar daun bakteri pada tanaman padi (*in vivo*) diperoleh hasil penekanan terbaik dengan nilai intensitas penyakit terkecil pada perlakuan isolat bakteri kode A6, A7, A9, dan B8. Berdasarkan hasil karakterisasi dan identifikasi diperoleh hasil bahwa 5 isolat bakteri antagonis termasuk ke dalam 3 genus yaitu isolat kode A5 dan A7 termasuk genus *Pantoea* sp., isolat kode A6 termasuk genus *Xanthomonas* sp., dan isolat kode A9 dan B8 termasuk genus *Pseudomonas* sp.

Damam *et al.* (2014) menyatakan bahwa *Pantoea* sp. memiliki kemampuan untuk memacu pertumbuhan berbagai jenis tanaman melalui produksi hormon pemacu pertumbuhan seperti IAA. Kandungan metabolit sekunder *Pantoea* sp. yang diketahui mempunyai aktivitas antibakteri yakni *N-methyl-N-[2'-(4-pyridyl) ethyl]-2(2 pyridyl) ethylamine* dan *(3R,4s)-3-(2-nitro-4-methoxyphenyl)-4-(4-hydroxyphenil) hexane*. Hasil penelitian Long *et al.*, (2004) menyatakan bahwa beberapa bakteri endofit *Pantoea* sp. yang diisolasi dari tanaman *Solanum* sp. dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Ralstonia solanacearum* secara *in vitro*.

Bakteri *Pseudomonas* sp. banyak digunakan untuk mengendalikan patogen tular tanah. Bakteri *P. flourescens* memiliki mekanisme khusus dalam menghambat pertumbuhan patogen yakni menghasilkan senyawa antibiotik

seperti *phenazine-1-carboxylic acid* (PIC), HCN, dan 2,4 *diacetylphloroglucinol* (DPAG), *pyoluteorin*, dan *pirolnitrin* (Mourhofer *et al.*, 1995). Menurut Reddy *et al.* (2008), *Pseudomonas* sp. dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Bakteri tersebut dapat menghasilkan senyawa metabolit yang dapat menghambat perkembangan patogen, seperti siderophore pseudobactin (pyoverdine) (Duijff *et al.*, 1999), 2,4-Diacetylphloroglucinol (Sessitsch *et al.*, 2004), HCN, *pyoluteorin*, *monoacetylphloroglucinol*, dan asam salisilat (Defago *et al.*, 1990). *Pseudomonas* sp. dapat bersifat endofitik yang menekan infeksi patogen dan menguntungkan tanaman inangnya (Adeline *et al.*, 2008).

Menurut penelitian dari Afizar and Parlina (2017) bakteri dari genus *Xanthomonas* sp. memiliki daya hambat (antagonis) tertinggi terhadap *Rigidoporus microporus* penyebab penyakit akar putih pada tanaman kopi. Patten and Glick (2002) dan BPPSDMP (2016) menyatakan bahwa beberapa genus bakteri dapat dijadikan sebagai PGPR, salah satunya adalah bakteri dari genus *Xanthomonas* sp.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan bakteri PGPR dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman padi. Perlakuan dengan isolat bakteri kode A9 dan B8 mampu meningkatkan tinggi tanaman, jumlah daun, dan panjang akar tanaman padi paling baik dibandingkan dengan isolat bakteri lainnya. Hasil identifikasi bakteri kode A9 dan B8 merupakan genus *Pseudomonas* sp. Grobelak *et al.* (2005) menyatakan bahwa *Pseudomonas* sp. merupakan salah satu genus bakteri yang mampu berperan sebagai PGPR pada tanaman sehingga mampu merangsang pertumbuhan tanaman. Rizobakteri *Pseudomonas* sp. memiliki beberapa mekanisme dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman antara lain menghasilkan hormon tumbuh seperti IAA (Thakuria *et al.*, 2004; Teixeira *et al.*, 2007; Karnwal., 2009), giberelin (Joo *et al.*, 2005), memfiksasi N (Bai *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2005; Hafeez *et al.*, 2006), dan melarutkan P (Mehvraz dan Chaichi, 2008). Salamone *et al.* (2001), menyatakan bahwa *Pseudomonas fluorescens* memiliki kemampuan memproduksi IAA, sitokinin, isopentenyl adenosine, dan zeatin ribose.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pada tanah kawasan UB Forest tepatnya daerah rizosfer dari tumbuhan Famili Cyperaceae (*Cyperus Iria* dan *Cyperus Difformis*) ditemukan 41 isolat bakteri. Dari 41 isolat bakteri, diperoleh 5 isolat bakteri kode A5, A6, A7, A9, dan B8 yang bersifat PGPR dan antagonis terhadap bakteri patogen Xoo serta mampu menekan perkembangan HDB pada tanaman padi. Rerata penghambatan (*in vitro*) terbesar dihasilkan oleh isolat bakteri kode A6 sebesar 14,25 mm. Pada uji penekanan HDB (*in vivo*) diperoleh isolat bakteri A6, A7, A9, dan B8 dengan nilai intensitas penyakit HDB terkecil dibandingkan dengan perlakuan kontrol.

Berdasarkan hasil karakterisasi dan identifikasi dari kelima isolat bakteri diketahui bahwa isolat bakteri kode A5 dan A7 termasuk pada genus *Pantoea* sp., isolat bakteri kode A6 termasuk genus *Xanthomonas* sp., dan isolat bakteri kode A9 dan B8 termasuk genus *Pseudomonas* sp.

5.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan pengujian dalam skala lapang untuk mengetahui efektivitas dari bakteri antagonis hasil eksplorasi yang telah diperoleh. Selain itu, sebaiknya dilakukan pengamatan dan pengukuran kondisi aktual lingkungan seperti intensitas penyinaran matahari dan perbedaan ketinggian tempat penelitian untuk mengetahui desain rancangan penelitian yang sesuai.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeline, S. Y. T. Sariah, M., Jugah, K., Son, R., and Gunit, S. 2008. Endophytic Microorganisms as Potential Growth Promoters of Banana. *Biocontrol*. 53: 541-53.
- Afizar and Parlina, I. 2017. Endophytic Bacteria from Roots of Coffee, and Its Potential as Agent Against White Root Disease *Rigidoporus microporus*. *Bioleuser*. 1(2): 54-62.
- Agrios, G. N. 2004. Plant Pathology. Fifth Edition. San Diego. California. Academic Press. Diterjemahkan oleh Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Andayaningsih, P. 2000. Pengaruh Tekanan Molase terhadap Perkembangan Azotobacter Indigenus Podsolik Merah Kuning Asal Subang pada Media Gambut. *Jurnal Bionatura*. 2 (2): 66-74.
- Badan Pusat Statistik. 2017. Kegiatan Impor Indonesia. Jakarta: Biro Pusat Statistik. <http://www.bps.go.id/publications/publikasi2017.php>. Diakses pada tanggal 11 Januari 2018.
- Badan Pusat Statistik. 2017. Produktivitas Padi Indonesia. Jakarta: Biro Pusat Statistik. <http://www.bps.go.id/publications/publikasi2017.php>. Diakses pada tanggal 11 Januari 2018.
- Bai, Y., Zhou, X. D., Smith, L. 2003. Enhanced Soybean Plant Growth Resulting from Coinoculation of Bacillus Strains with *Bradyrhizobium japonicum*. *Crop Sci*. 43: 1774-1781.
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., and Vivanco, J. M. 2006. The Role of Rootexudates in Rhizosphere Interactions with Plants and Other Organisms. *Annu. Rev. Plant Biol*. 57: 33-66.
- Baker, S. K. and Cook, J. R. 1974. Biological Control of Plant Patogens. San Fransisco: WH Freeman and Company.
- BPPSDMP. 2016. Pembuatan Agensia Hayati (*Beauveria Bassiana*, *Trichoderma* sp., Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). [Online] Available at : <http://cybex.pertanian.go.id/materilokalita/detail/12581/pembuatan-agensia-hayati-beauveria-bassiana-trichoderma-sp-plant-growth-promoting-rhizobacteria-pgpr>. Diakses pada tanggal 29 Agustus 2018.
- Buchanan, B., Gruissem, W., and Jones, R. 2000. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. *American Society of Plant Physiologists* 30: 52-57.

- Chermin, L. and Chet, L. 2002. Micorbial Enzymes in Biocontrol of Plants Patogens and Pests, P 171 - 225. *In*: R. G. Burns and R. P. Dick (ed.), Enzymes in the Environment: Activity, Ecology, and Applications. Marcel Dekker, New York.
- Chithrashree, Udayashankar, A. C., Nayaka, S. C., Reddy, M. S., Srinivas, C. Plant Growth-promoting Rhizobacteria Mediate Induced Systemic Resistance In Rice against Bacterial Leaf Blight Caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Biological Control. 59: 114-122.
- Choudary, D. K., Prakash, A., and Johri, B. N. 2007. Induced Systemic Resistance (ISR) in Plants: Mechanism of Action. Indian J. Microbiol. 47: 289-97.
- Choudhary, D. K. and Johri, B. N. 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and Plants-with Special Reference to Induced Systemic Resistance (ISR). J. Microbial. 164: 493-513.
- Curl, E and Bryan, T. 1985. The Rhizosphere. Springer- Verlag. Berlin Heidelberg New York. Tokyo.
- Damam, M., Gaddam, B., Kausar, R. 2014. Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on *Coleus forskohlii*. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci (2014). 3(9): 266-274.
- Danapriatna, N. 2010. Biokimia Penambatan Nitrogen oleh Bakteri Non-simbiotik. Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah 1 (2): 1-10.
- Davis, W. W. and Stout, T. R. 1971. Disc Plate of Method of Microbiological Antibiotic Assay. I. factors influencing variability and error. Appl Microbiol. 22 (4): 659-665.
- Defago, C., Berling, C. H., Burger, U., Haas, D., Kahr, G., Keel, C., Voisard, C., Wirthner, P., and Wütreih. 1990. Suppression of Black Root Rot of Tobacco and Other Root Diseases by Strain of *Pseudomonas fluorescens*: Potential Application and Mechanisms. In Hornby. D (ed.). Biological control of soilborne plant pathogens, C.A.B. Int, Wallingford. 93-108.
- Duijff, B. J., Recobert, G., Baker, P. A., Loper, J. E., and Lemanceau, P. 1999. Microbial Antagonism at The Root is Involved in The Suppression of Fusarium Wilt by The Combination of Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas putida* WCS358. Phytophathol. 89: 173-179.
- Egamberdiyeva, D. 2007. The Effect of PGPR on Growth and Nutrient Uptake of Maize in Two Different Soils. Applied Soil Ecology. 36 (1): 184-189.
- Fahy, P. and Persley, G. J. 1983. Plant Bacteria Disease : A Diagnostic Guide. Academic Press. Sydney. 393p.

- Fitri, D. S., Syam, Z., Solfiyeni. 2014. Komposisi dan Struktur Gulma pada Fase Vegetatif Padi Sawah (*Oryza sativa* L.) di Nagari Singkarak Kabupaten Solok Sumatera Barat. J. Bio. UA. 3 (1): 68-72.
- Franché, C., Lindström, K., and Elmerich, C. 2009. Nitrogen-fixing Bacteria Associated with Leguminous and Non-leguminous Plants. Plant Soil. 321:35–59. DOI 10.1007/s11104-008-9833-8.
- Freeman, S., Zveibel, A., Vintal, H., Maymon, M. 2002. Isolation of Nonpathogenic Mutants of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* for Biological Control of Fusarium Wilt in Cucurbitae. J. Phytopathology. 1 (92): 264-168.
- Gandanegara, S. 2007. Azora Pupuk Hayati untuk Tanaman Jagung dan Sayur. Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi. BATAN.
- Grobelak, A., Napora, A., Kacprzak, M. 2015. Using Plant Growth Promoting Rhizobacteria to Improve Plant Growth. Ecological Engineering. (84): 22-28.
- Gul, A., Kidoglu, F., Tuzel, Y., and Tuzel, H. 2008. Effects of Nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Growing in Perlite. Spanish Journal of Agricultural Research. 6 (3): 422-429.
- Hadanayanto dan Hairiah, K. 2007. Biologi Tanah. Yogyakarta: Pustaka Adipura.
- Hadioetomo, R. S. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Jakarta: Gramedia.
- Hafeez, F. Y., Yasmin, S., Ariani, D., Rahman, M., Zafar, Y., Malik, K. A. 2006. Plant Growth Promoting Bacteria as Biofertilizer. Agron Sustain Dev. 26: 143-150.
- Hardy R. W. F., Holsten, R. D., Jackson, E. K., and Burns, R. C. 1996. The Acetylene-Etilen Assay for N₂ Fixation: Laboratory and Field Evaluation. Plant Physiol 43: 1185-1207.
- Hasanah, I. 2007. Bercocok Tanam Padi. Jakarta: Azka Mulia Media.
- Hastuti, R. D., Saraswati, R., Sari, A. P. 2014. Keefektifan Mikroba Endofit dalam Memacu Pertumbuhan dan Mengendalikan Penyakit Hawar Pelepah Daun pada Padi Sawah. Jurnal Tanah dan Iklim. 38 (2).
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, I. 2010. Soil Beneficial Bacteria and Their Role in Plant Growth Promotion: a review. Annal Microbiology. 60: 579-598.

- Hifni, H. R. dan Kardin, M. K. 1998. Pengelompokan Isolat *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dengan Menggunakan Galur Isogenik Padi IRRI. Hayati 5: 66-72.
- Himedia. 2015. Burk Medium M707. Himedia Laboratories Pvt. Ltd. A-516 Swastik Disha Business Park, Via Vadhani Ind. Est., LBS Marg, Mumbai-400086, India. <http://himedialabs.com>. Diakses pada tanggal 04 Maret 2018.
- Himedia. 2015. Pikovskaya's Broth (Medium) M1719. Himedia Laboratories Pvt. Ltd. A-516 Swastik Disha Business Park, Via Vadhani Ind. Est., LBS Marg, Mumbai-400086, India. <http://himedialabs.com>. Diakses pada tanggal 04 Maret 2018.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Stanley, J. T., and Williams, S. T. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.
- Husen, E. Salma, S. Agus, F. 2014. Peat Emission Control by Groundwater Management and Soil Amendments: Evidence from Laboratory Experiments. Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change. 19: 821-829.
- Illmer, P. and Schiner, F. 1992. Solubilization of Organik Phosphate by microorganism Isolated from Forest Soil. Soil Biol Biochem. 24: 389-395.
- Jha, G., Rajeswhari, R. and Shonti, R. V. 2007. Functional Interplay Between Two *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Secretion Systems in Modulating Virulence on Rice. Mol. Plant-Microbe Interact. 20: 31-40.
- Joo. 2005. Gibberellins-producing Rhizobacteria Increase Endogenous Gibberellins Content and Promote Growth of Red Peppers. J Microbiol. 43: 510-515.
- Jumin, H. B. 2010. Dasar-dasar Agronomi. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Kaewnum, S., Prathuangwong, S., Burr, T. J. 2005. Agressiveness of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Isolat to Soybean Hypersensitivity Respon by Other Plant. Plant Pathology. 54: 409-415.
- Karnwal, A. 2009. Production of Indole Acetic Acid by fluorescent *Pseudomonas* in The Presence of L-tryptophan and Rice Root Exudates. J Plant Pathol 91: 61-63.
- Kawaguchi, A., Inoue, K., Ichinose, Y. 2008. Biological Control of Crown Gall of Grapevine, Rose, and Tomato by Nonpatogenic *Agrobacterium vitis* Strain VAR03-1. Journal of Biological Control. 98 (11): 1218-1225.

- Khaeruni, A., Taufik, M., Wijayanto, T., Johan, E. A. 2014. Perkembangan Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tiga Varietas Padi Sawah yang Diinokulasikan pada Beberapa Fase Pertumbuhan. *J. Fitopatologi Indonesia*. 10 (4): 119-125.
- Khan, T., U., Z., Yasin, S., I., Ayub, M., Shah, J., A., and Ahmad, M. 2006. Effect of Different Chemicals and Antibiotics on Bacterial Leaf Blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) of Rice. *Mycopath*. 3: 57-59.
- Kloepper, J. W., Ryu, C. M., Zhang, S., 2004. Induced Systemic Resistance and Promotion of Plant Growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94: 1259-1266.
- Kusumadewi. 2011. Seleksi Plant Growth Promoting Rhizobacteria untuk Pengendalian. <http://repository.ipb.ac.id>. Diakses pada tanggal 11 Januari 2018.
- Kuswinanti, T., Baharuddin, dan Sukmawati, S. 2014. Efektivitas Isolat Bakteri dari Rizosfer dan Bahan Organik terhadap *Ralstonia solanacearum* dan *Fusarium oxysporum* pada Tanaman Kentang. *J. Fitopatologi Indonesia* 10 (2): 68-72.
- Lalitha, M. S., Devi, G. L., Kumar, G. N., and Shashidhar, H. E. 2010. Molecular Marker-assisted Selection: A Tool for Insulating Parental Lines of Hybrid Rice Against Bacterial Leaf Blight. *Int. Jour. of Plant Pathology* 1: 114-123.
- Lay, W. B. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Lestari, Y., Saraswati, R., Darusman, I. K., Chaerani, Hastuti, R. D. 2007. Pengembangan *Streptomyces* spp. sebagai Agens Pengendali Mikroba Patogen Tular Tanah. *IPB research*.
- Lindung. 2014. Teknologi Pembuatan dan Aplikasi Bakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman (PGPR) dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) [Online]. Available at: <http://www.bppjambi.info/default.asp?v=news&id=589>. Diakses pada tanggal 29 Agustus 2018.
- Long, H. H., Furuya, N., Karose, D., Yamamoto, I., Takeshi, M., and Tanakami, Y. 2004. Identification of The Endophytic Bacterial Isolate and Their in Vitro and in Vivo Antagonist Against *Ralstonia solanacearum*. *Journal Faculty Agriculture. Kyushu University*. 49 (2): 233-241.
- Madigan, M. and Martinko, J. M. 2006. *Biology of Microorganism*. Prentice Hall. New Jersey.
- Makarim, A. K., dan Suhartatik, E. 2009. *Morfologi dan Fisiologi Tanaman Padi*. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi.

- Maor R., Haskin, S., Levi-Kedmi, H., Sharon, A. 2004. In Planta Production of Indole-3-Acetic Acid By *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *Aeschynomene*. App Environ Microbiol. 70: 1852-1854.
- Martin, J. 2006. Dasar-dasar Kuliah Gulma. Jurusan Biologi. Bali: Universitas Udayana.
- McMilan, S. 2007. Promoting growth with PGPR. The Canadian Organic Grower. Soil Foodweb Canada Ltd. Soil Biology Lab. Learning Centre. 32-34.
- Mehrvraz, S., Chaichi, M. R. 2008. Effect of Phosphate Solubilizing Microorganisms and Phosphorus Chemical Fertilizer on Forage and Grain Quality of Barley. American-Eurasian J Agric Environ Sci. 3 (6): 855-860.
- Mourhofer, M., Keel, C., Haas, D., and Defago, G. 1995. Influence of Plant Species on Disease Suppression by *Pseudomonas fluorescens* Strain CHAO with Enhanced Antibiotic Production. Plant Pathology. 44 (2): 40-50.
- Nantasomsaran, P. dan Moody, K. 1993. Weed Management for Rainfed Lowland Rice. Paper to be Presented at the Second Annual Technical Meeting of the Rainfed Lowland Rice Consortium. Seminar Internasional. 10-13 Februari 1993.
- Nellawati, N. L. C. A., Kawuri, R., Arpiwi, N. L. 2016. Inhibition of *Streptomyces roseoflavus* A12 against *Xanthomonas* sp. caused Bacterial Leaf Blight Disease (HDB) In Rice Plants (*Oryza Sativa* L.). Jurnal Metamorfosa. 3 (1): 1-7.
- Nurrochman, F. 2015. Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Tanah Hutan Mangrove Barus Kretek, Bantul, Yogyakarta. Skripsi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Patten, C. L., and Glick, B. R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* Indole Acetic Acid Development of The Host Plant Root System. Appl. Environ. Microbiol. 68: 3745-3801.
- Park, M. 2005. Isolation and Characterization of Diazotrophic Growth Promoting Bacteria from Rhizosphere of Agricultural Crop of Korea. Microbiol Res. 160: 127-133.
- Plantamor. 2012. Padi. (Online) <http://www.plantamor.com/index.php?plant=926>. Diakses pada tanggal 18 Agustus 2018.
- Ponciano, G., Ishihara, H., Tsuyumu, S., and Leach, J. E. 2003. Bacterial Effectors in Plant Disease and Defense: Keys to Durable Resistance. Journal of Plant Disease 87 (11): 1272-1282.

- Pou, Z. S., Uno, W. D., Kandowanko, N. Y. 2015. Isolasi Actinomycetes Pada Rhizosfer Rumput Teki (*Cyperus Rotundus*) dan Uji Potensi sebagai Penghasil Antibiotik. Universitas Negeri Gorontalo.
- Prayudyaningsih, A., Nursyamsi, dan Ramadana, S. 2015. Mikroorganisme Tanah Bermanfaat pada Rhizosfer Tanaman Umbi Di bawah Tegakan Hutan Rakyat Sulawesi Selatan. Balai Penelitian Kehutanan Makassar. Vol 1(4): 954-959.
- Purwantari, N. D. 2008. Penambatan Nitrogen Secara Biologis: Perspektif dan Keterbatasannya. Wartazoa 18 (1): 9-17.
- Putra, C. dan Giyanto. 2014. Kompatibilitas *Bacillus* spp. dan Aktinomiset sebagai Agens Hayati *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan Pemacu Pertumbuhan Padi. Fitopatologi Indonesia. 10 (5): 160-169.
- Reddy, B. P., Reddy K. R. N., Rao. K. S. 2008. Efficacy of Antimicrobial Metabolites of *Pseudomonas fluorescens* Against Rice Fungal Pathogens. Curr. Trends. Biotechnol. Pharm. 2 (1): 178-182.
- Rosmawati, D. Y. 2008. Pengaruh Tinggi Genangan terhadap Pertumbuhan Gulma dan Produksi Padi Hibrida (*Oryza sativa* L.). Skripsi. Fakultas Pertanian IPB.
- Salamone, I. E. G., Heynes, R. K., Nelson, L. M. 2001. Cytokinin Production by Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Selected Mutants. Can J Microbiol. 47: 404-411.
- Schaad, N. W., Jones, J. B., Chun, W. 2001. Laboratory Guide of Identification of Plant Pathogenic Bacteria (Third Edition). APS Press. St. Paul Minnessota.
- Sessitsch, A., Reiter, B., and Berg, G. 2004. Endophytic Bacterial Communities of Field-Grown Potato Plants and Their Plant-Growth-Promoting and Antagonistic Abilities. Can. J. Microbiol. 50: 239-249.
- Simanungkalit, R. D. M. dan Suriadikarta, D. A. 2006. Pupuk Organik dan Pupuk Hayati. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Lahan Pertanian, Bogor.
- Sitaramaraju, S., Prasad, N. V. V. S. D., Chenga, R. V. and Narayana, E. 2014. Impact of Pesticides Used for Crop Production on The Environment. JCHPS Special. 3: 75-79.
- Sitompul, S. M. dan Guritno, B. 1995. Analisis Pertumbuhan Tanaman. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

- Sudir. 2011. Pengaruh Varietas, Populasi Tanaman dan Waktu Pemberian Pupuk N terhadap Penyakit Padi. Prosiding Seminar Ilmiah Hasil Penelitian Padi Nasional 2010. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. 393-604.
- Sudir, Nuryanto, B., Triny. 2012. Epidemiologi, Patotipe, dan Strategi Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi. Jurnal Tanaman Pangan. 7 (2): 79-87.
- Sumarno, M., Budiharjo, A., Pujiyanto, S. 2014. Potensi Rizobakteri Pembentuk Endospora dari Tanaman Padi sebagai Biokontrol Fitopatogen *Xanthomonas Oryzae*. Jurnal Biologi. 3 (3): 7-17.
- Suparyono dan Sudir. 1992. Perkembangan Penyakit Bakteri Hawar Daun pada Stadia Tumbuh yang Berbeda dan Pengaruhnya terhadap Hasil Padi. Media Penelitian Sukamandi 12: 6-9.
- Suryadi, Y., Kadir, T. S., Machmud, M. 2006. Deteksi *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Penyebab Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi. Jurnal Tanaman Pangan. 25 (2): 108-115.
- Syekhfani. 2013. Padi. (Online) <http://syekhfanismd.lecture.ub.ac.id/files/2013/03/PADI-PUSRI.pdf>. Diakses pada tanggal 29 Agustus 2018.
- Sylvia, D., Fuhrmann, J., Hartel, P., Zuberer, D. 2005. Principles and Applications of Soil Microbiology. Pearson Education Inc. New Jersey.
- Teixeira, D. A. 2007. Rhizobacterial Promotion of Eucalyptus Rooting and Growth. Brazilian J Microbiol. 38: 118-123.
- Thakuria, D. N., Talukdar, C., Goswami, C., Hazarika, S., Boro, R. C., Khan, M. R. 2004. Characterization and Screening of Bacteria from Rhizosphere of Rice Grown in Acidic Soils of Assam. Current Sci 86: 978-985.
- Van Loon, L. C. 2000. Systemic Induced Resistance dalam Susarenko, A., Fraser, R. S. S., Van Loon, L. C. editor. Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. Netherland: Kluwr academic publisher. 521-574.
- Van Loon, L. C. and Bakker, P. A. H. M. 2003. Signalling in Rhizobacteria-Plant interactions. In: De Kroon H, Visser EJW (eds) Root ecology. Ecological Studies, 168 : 297-330.
- Vidhyasekaran, P., Kamala, N., Ramanathan, A., Rajappan, K., Paranidharan, V., Velazhahan, R., 2001. Induction of Systemic Resistance by *Pseudomonas fluorescens* Pf1 against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Rice Leaves. Phytoparasitica. 29: 155-166.

- Volksch, B. and May, R. 2001. Biological Control of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* By Epiphytic Bacteria Under Field Conditions. J. Microbial ecology (41): 132-139.
- Waluyo, L. 2008. Teknik Metode Dasar Mikrobiologi. Universitas Muhamadiyah Malang Press, Malang.
- Wei, G., Kloepper, J. W., Tuzun, S., 1996. Induced Systemic Resistance To Cucumber Diseases And Increased Plant Growth By Plant Growthpromoting Rhizobacteria Under Field Conditions. Phytopathology 86 (2): 221-224.
- Whitmore, T. C. 1990. An Introduction to Tropical Rain Forests. Clarendon Press. Oxford.
- Widawati S, dan Suliasih. 2006. Populasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) di Cikaniki, Gunung Botol dan Ciptarasa, serta Kemampuannya Melarutkan P Terikat di Media Pikovskaya Padat. Biodiversitas 7 (2): 109-113.
- Widawati, S., Arif, N., and Sudiana, I. M. 2008. Phosphate Solubilizing Activities of Actinomycetes Isolats from Waigeo, Raja Ampat Islands, West Papua. Biodiversitas. 9 (2): 87-90.
- Wuryandari, Y., Purnawati, A., Arwiyanto, T., Hadisutrisno, B. 2008. Dose and Dilution of The Effectiveness of Fluorescents in Tomato against *Ralstonia solanacearum* In Vitro. J. Mapeta. 10 (2): 72-78.
- Yolanda, E. M. G., Hernandez, D. J., Hernandez, C. A., Esparza, M. A. M., Cristales, M. B., Ramirez, L. F., Contreras, R. D. M., dan Rojas, J. M. 2011. Growth Response of Maize Plantlets Inoculated with *Enterobacter* spp., as a Model for Alternative Agriculture. Revista Argentina de Microbiología. 4 (3): 287-293.
- Zuberer, D. A. and Silver, W. S. 1998. Biological Dinitrogen Fixation (Acetylene Reduction) Associated with Florida Mangrove. Appl. Environ. Microbiol. 35: 567-575.

LAMPIRAN

Tabel lampiran 1. Hasil Analisis Ragam Uji Antagonis secara *In Vitro*

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF	
Perlakuan	135	5	27	3.496403	0.022047	*
Residual	139	15	7.722222			
Total	274	20	11.91304			

Tabel lampiran 2. Hasil Analisis Ragam Tinggi Tanaman pada 5 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Ulangan	493.8945313	3	164.6315104	15.9020249	
Perlakuan	143.1707589	6	23.86179315	2.304849345	0.07930551
Residual	186.3515625	18	10.35286458		
Total	823.4168527	27	30.49692047		

Tabel lampiran 3. Hasil Analisis Ragam Tinggi Tanaman pada 10 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF	
Ulangan	443.2008929	3	147.733631	10.84619166		
Perlakuan	230.5446429	6	38.42410714	2.820990914	0.040864262	*
Residual	245.1741071	18	13.62078373			
Total	918.9196429	27	34.03406085			

Tabel lampiran 4. Hasil Analisis Ragam Tinggi Tanaman pada 15 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF	
Ulangan	504.296317	3	168.0987723	13.00991425		
Perlakuan	250.7734375	6	41.79557292	3.234745929	0.02458759	*
Residual	232.5747768	18	12.92082093			
Total	987.6445313	27	36.57942708			

Tabel lampiran 5. Hasil Analisis Ragam Tinggi Tanaman pada 20 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Ulangan	382.118817	3	127.372939	6.64653027	
Perlakuan	223.029375	6	37.1715625	1.939673507	0.12896497
Residual	344.9488393	18	19.1638244		
Total	950.0970313	27	35.18877894		

Tabel lampiran 6. Hasil Analisis Ragam Jumlah Daun pada 5 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Ulangan	297.7142857	3	99.23809524	6.132417852	
Perlakuan	184.7142857	6	30.78571429	1.902403139	0.135610037
Residual	291.2857143	18	16.18253968		
Total	773.7142857	27	28.65608466		

Tabel lampiran 7. Hasil Analisis Ragam Jumlah Daun pada 10 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Ulangan	275.8571429	3	91.95238095	5.814805521	
Perlakuan	167.3571429	6	27.89285714	1.763864492	0.163571116
Residual	284.6428571	18	15.81349206		
Total	727.8571429	27	26.95767196		

Tabel lampiran 8. Hasil Analisis Ragam Jumlah Daun pada 15 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Ulangan	407.2857143	3	135.7619048	5.634387352	
Perlakuan	599.7142857	6	99.95238095	4.148221344	0.008634995 **
Residual	433.7142857	18	24.0952381		
Total	1440.714286	27	53.35978836		

Tabel lampiran 9. Hasil Analisis Ragam Jumlah Daun pada 20 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Ulangan	830.1071429	3	276.702381	9.103002611	
Perlakuan	572.8571429	6	95.47619048	3.140992167	0.027535306 *
Residual	547.1428571	18	30.3968254		
Total	1950.107143	27	72.22619048		

Tabel lampiran 10. Hasil Analisis Ragam Intensitas Penyakit pada 10 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Ulangan	153.5714286	3	51.19047619	0.358333333	
Perlakuan	8571.428571	6	1428.571429	10	0.000064128 **
Residual	2571.428571	18	142.8571429		
Total	11296.42857	27	418.3862434		

Tabel lampiran 11. Hasil Analisis Ragam Intensitas Penyakit pada 15 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Ulangan	114.2857143	3	38.0952381	0.241813602	
Perlakuan	10050	6	1675	10.63224181	0.000042844 **
Residual	2835.714286	18	157.5396825		
Total	13000	27	481.4814815		

Tabel lampiran 12. Hasil Analisis Ragam Intensitas Penyakit pada 20 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Ulangan	14.28571429	3	4.761904762	0.023904382	
Perlakuan	11471.42857	6	1911.904762	9.597609562	0.000083689 **
Residual	3585.714286	18	199.2063492		
Total	15071.42857	27	558.2010582		

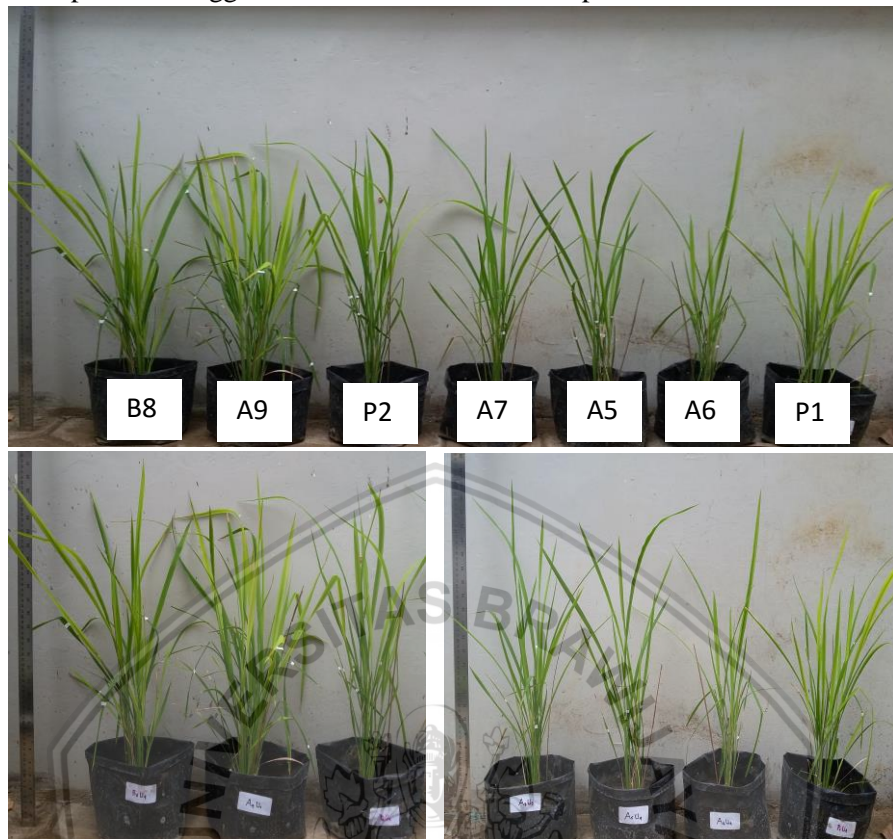
Tabel lampiran 13. Hasil Analisis Ragam Panjang Akar pada 20 HSI

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Ulangan	64.55357143	3	21.51785714	0.895457689	
Perlakuan	345.2633929	6	57.54389881	2.694668125	0.070507368 *
Residual	432.5401786	18	24.03000992		
Total	842.3571429	27	31.1984127		

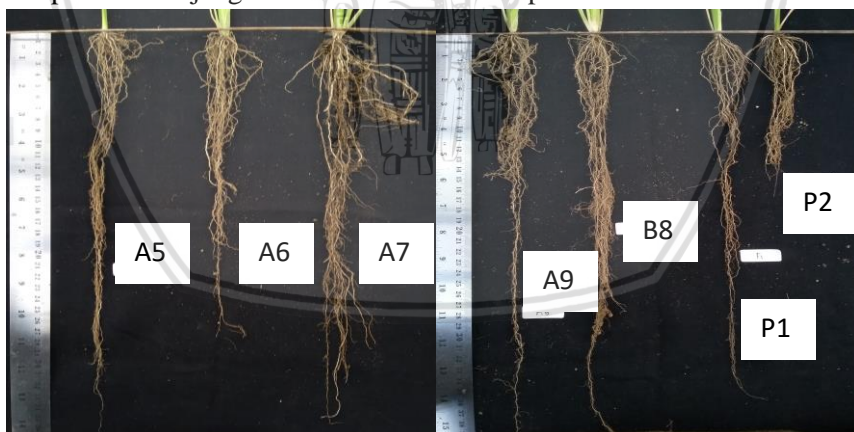
Gambar lampiran 1. Gejala Penyakit HDB pada Masing-masing Perlakuan



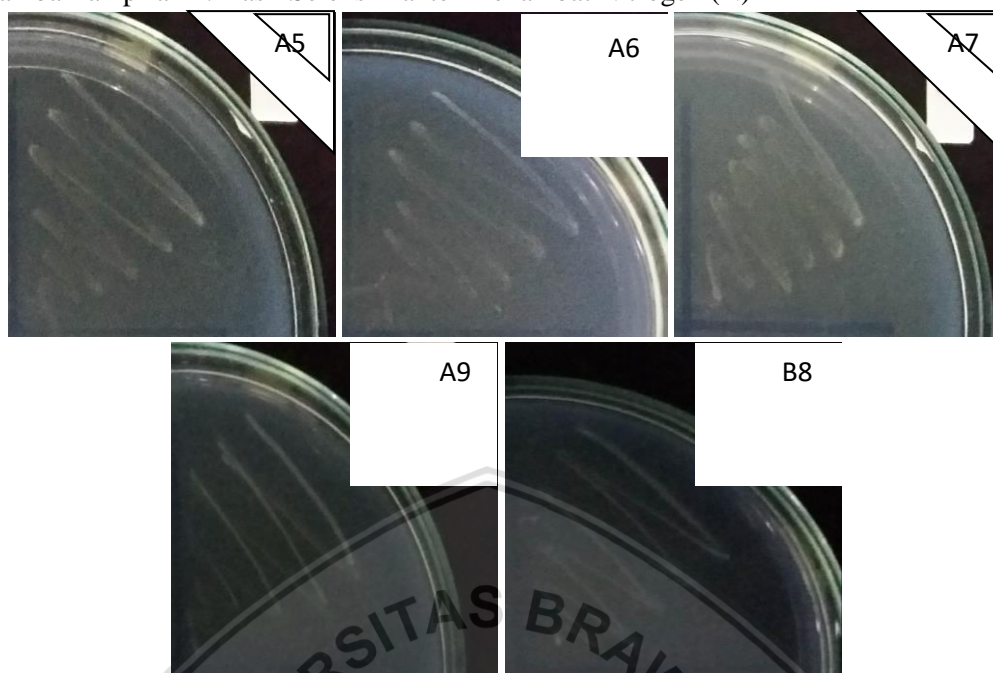
Gambar lampiran 2. Tinggi Tanaman Semua Perlakuan pada 7 MST



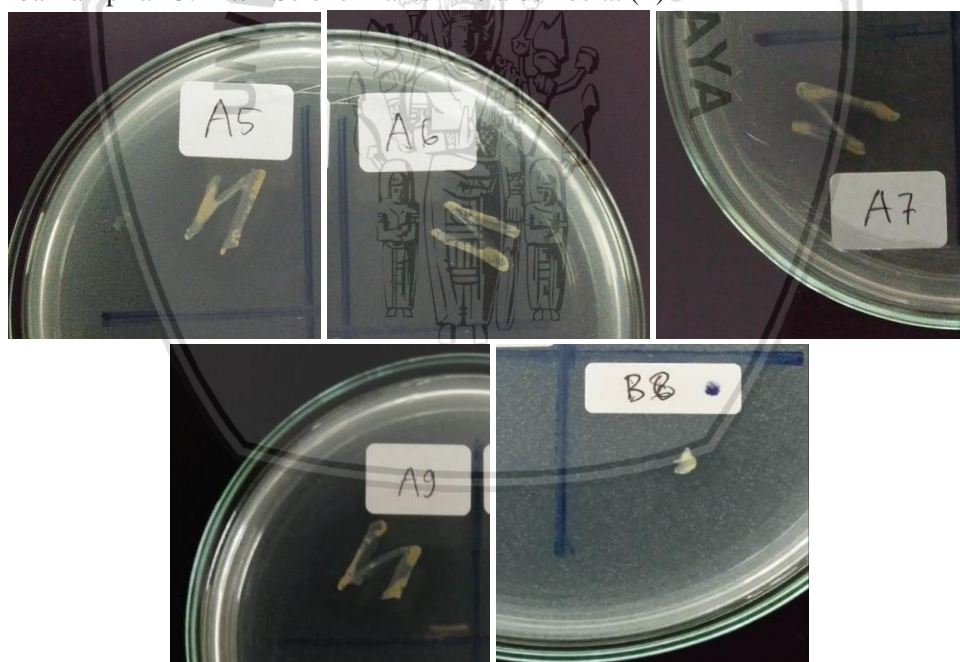
Gambar lampiran 3. Panjang Akar Semua Perlakuan pada 7 MST



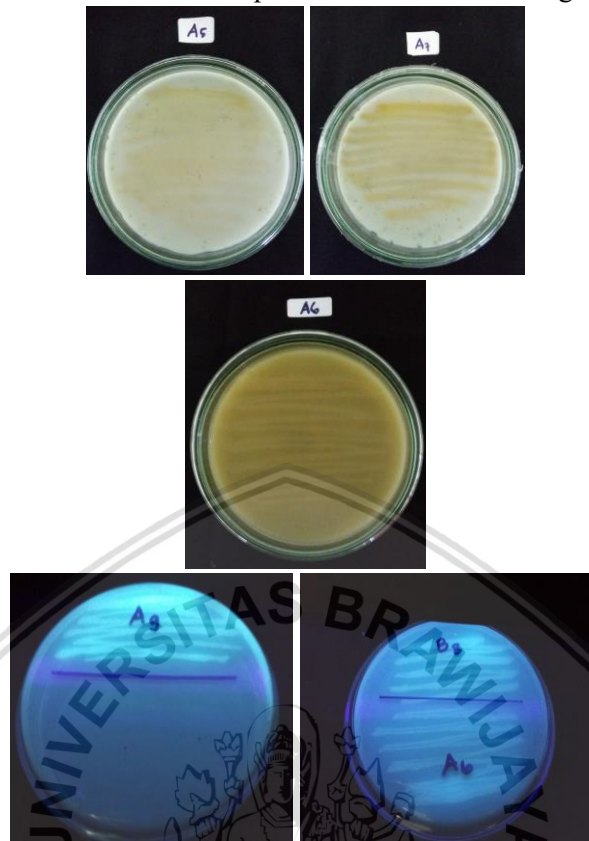
Gambar lampiran 4. Hasil Seleksi Bakteri Penambat Nitrogen (N)



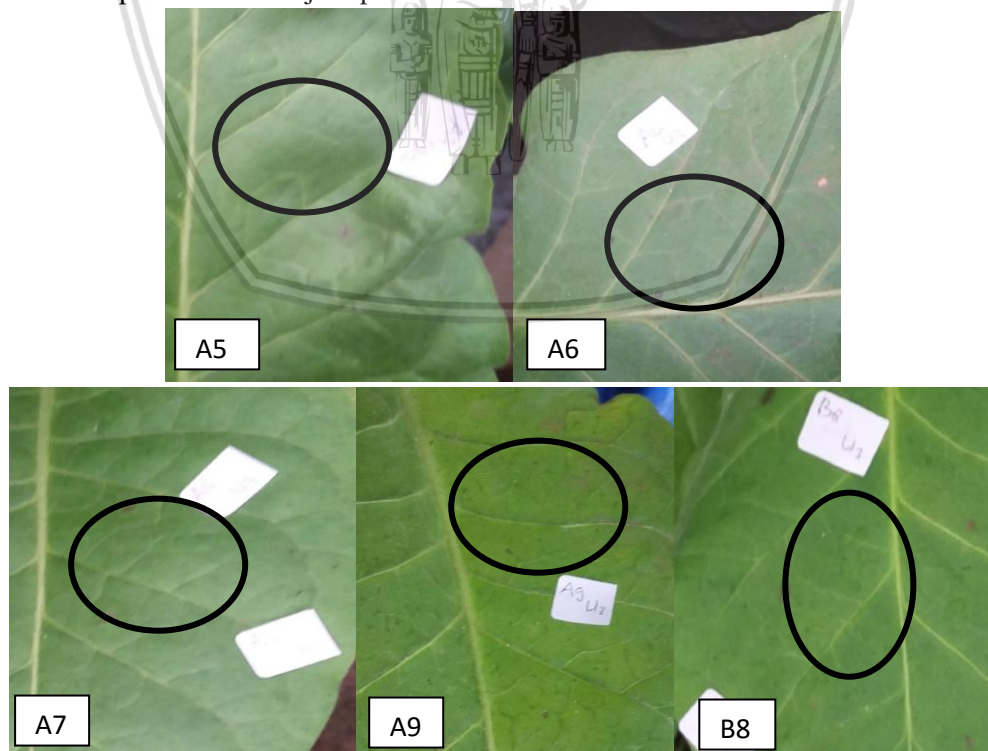
Gambar lampiran 5. Hasil Seleksi Bakteri Pelarut Fosfat (P)



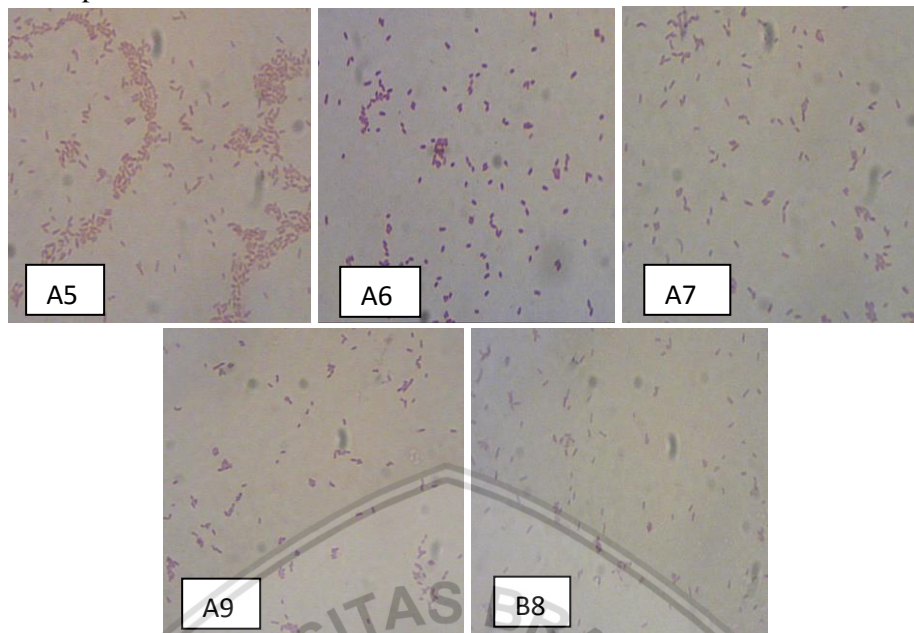
Gambar lampiran 6. Identifikasi Bakteri pada media YDC dan King's B



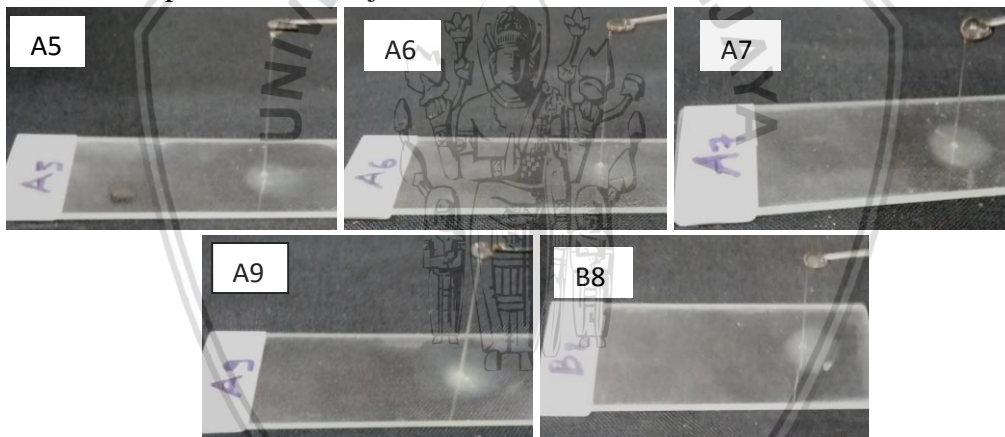
Gambar lampiran 7. Hasil Uji Hipersensitif



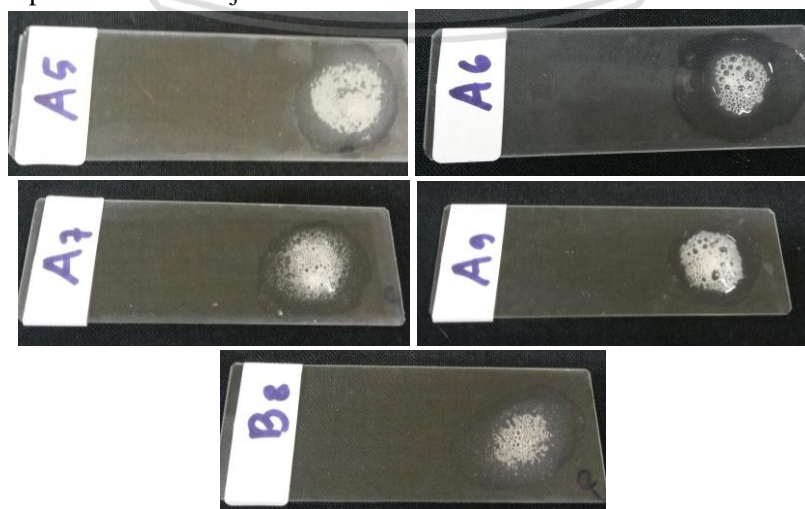
Gambar lampiran 8. Hasil Pewarnaan Gram



Gambar lampiran 9. Hasil Uji KOH 3%



Gambar lampiran 10. Hasil Uji Katalase



Gambar lampiran 11. Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif

